



ASOCIACIÓN
BIOQUÍMICA
ARGENTINA

ByPC

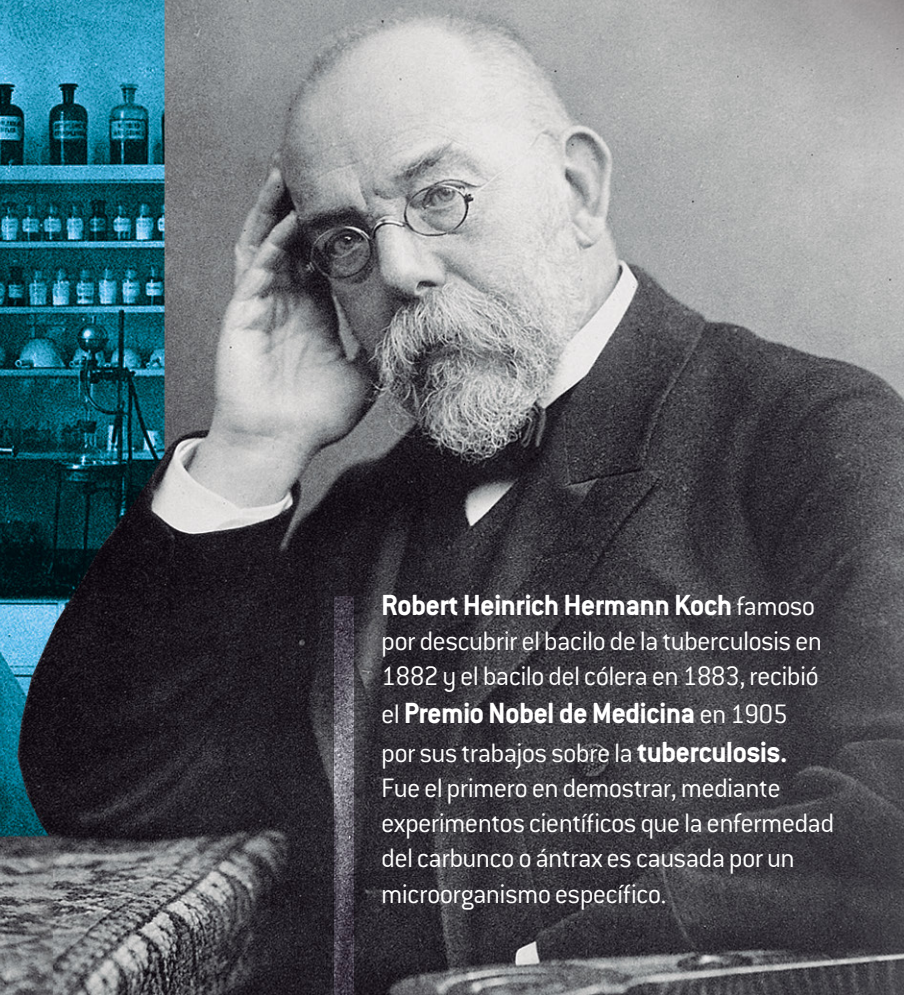
Bioquímica y Patología Clínica

Revista de la Asociación
Bioquímica Argentina

Vol. 87 - Nº3
Sep. - Dic. de 2023

Ciudad de Bs. As. Argentina
ISSN 1515-6761 Ed. Impresa
ISSN 2684-0359 Ed. electrónica

Serie de fotos de tapa
**CIENTÍFICOS DESTACADOS DE LA
HISTORIA EN SUS LABORATORIOS**



Robert Heinrich Hermann Koch famoso por descubrir el bacilo de la tuberculosis en 1882 y el bacilo del cólera en 1883, recibió el **Premio Nobel de Medicina** en 1905 por sus trabajos sobre la **tuberculosis**. Fue el primero en demostrar, mediante experimentos científicos que la enfermedad del carbunco o ántrax es causada por un microorganismo específico.

EDITORIAL

Pág. 20 **ChatGPT en la investigación científica.***ChatGPT in scientific research.*

Julián Verona.

ARTÍCULOS ORIGINALES

Pág. 22 **Evaluación de dos métodos de formato no competitivo para el dosaje de anticuerpos antirreceptor de TSH.***Evaluation of Two Non-Competitive Methods for the Measurement of Anti-TSH Receptor Antibodies.*

Calvo, Mariela; Astarita, Graciela; Otero, Patricia.

Pág. 28 **Caracterización fenotípica y molecular de enterobacterias productoras de carbapenemasas en la ciudad de Mar del Plata.***Phenotypic and molecular characterization of carbapenemase-producing enterobacteriaceae in the city of Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.*

Giletto, Giuliana; García, Martina; Chianalino, Daniela; Keller, Lorena; Morvay, Laura; Tomassini, Lioriana; Cortazar, María Mercedes; Cañas, Marisol; Damiano, Rocio; Moran, Natalia; Elorza, María Victoria; Giustina, Silvina; Fares Taie, Hernan; Faccione, Diego; Guerriero, Leonor; Quintana, Silvina.

Pág. 34 **Análisis de la longitud de telómeros como marcador del estado metabólico.***Analysis of the telomere length as a marker of the metabolic condition.*

Millán, Andrea Liliana; Pautasso, María Constanza; Rojo, Mailén; Linari, María Amelia; Beskow, Axel; Gutt, Susana; Frechtel, Gustavo Daniel; Cerrone, Gloria Edith.

Pág. 45 **Utilidad de la medición de actividad de ADAMTS13 a propósito de un caso de púrpura trombocitopénica trombótica en pediatría.***Usefulness of the measurement of ADAMTS13 activity regarding a case of thrombotic thrombocytopenic purpura in a pediatric patient.*

Marcone, María Inés; Colitto, Laura; Ottobre, Macarena; Nosetti, Agustina; Osta Viviana.

Pág. 52 **Cuantificación de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 en el personal de salud vacunado del Hospital Rawson de la provincia de Córdoba.***Quantification of IgG antibodies against SARS-CoV-2 on the staff of the Rawson Hospital, Córdoba Province, Argentina.*

Barrientos Alvarado, Carla Daniela; Zini, Cecilia, Collino, Cesar Juan Gerardo.

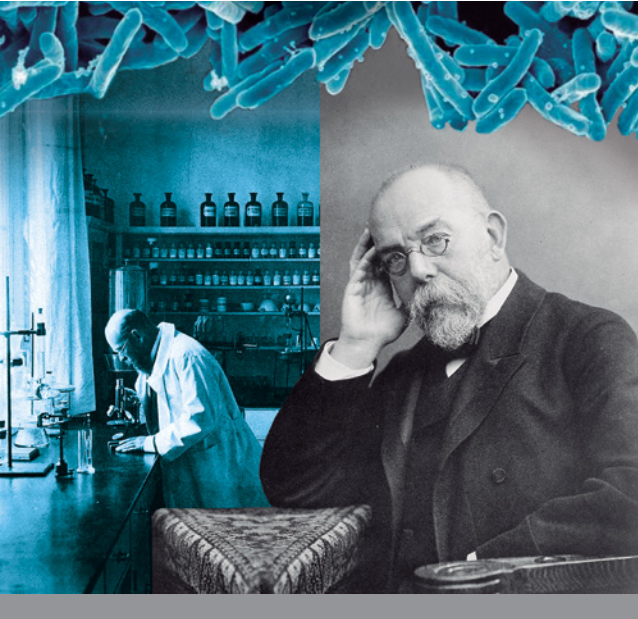
GUÍA DE RECOMENDACIÓN

Pág. 60 **Recomendaciones del laboratorio clínico en el estudio de las proteínas séricas a partir del proteinograma electroforético.***Recommendations for the clinical laboratory for the study of serum proteins from the electrophoretic proteinogram.*

Arco, Silvia Estela; Baquío, María Isabel; Bovone, Nora Silvia; Crispiani, Isabel Amalia; De Marco, Beatriz; Desimone, Isabel Viviana; Factorovich, Adriana Marcela; Fernández, Diego Javier; García, Mónica Alicia; Giani, Miriam Patricia; Lorenzon, María Victoria; Lunazzi, Graciela; Madalena, Leticia Bibiana; Nieves Luciano David; Osatinsky, Raquel; Pijuan, María Carla; Ríos, María de Lourdes; Santoro, Silvina Andrea; Tavella de Del Río, Dfelia.

PROGRAMA DE EDUCACIÓN CONTINUA

Pág. 71 **Cursos A.B.A - Ciclo Lectivo 2023.**



Derecha: Prof. Dr. Robert Koch.

Izquierda: Robert Koch trabaja en su laboratorio. Fotografía de la colección del periódico alemán Süddeutsche Zeitung.

TAPA

Robert Heinrich Hermann Koch nació el 11 de diciembre de 1843 en Clausthal en las montañas del Harz, en ese entonces parte del reino de Hannover. Luego de la Guerra austro-prusiana, en 1866, esa ciudad sería parte de Prusia. Hijo de un ingeniero de minas, estudió medicina bajo la tutela de Friedrich Gustav Jakob Henle en la Universidad de Gotinga y se graduó en 1866.

Robert sirvió en la guerra Franco-Prusiana y posteriormente se convirtió en el médico oficial del distrito en Wollstein (Wolsztyn), en la Prusia polaca. Trabajando con muy pocos recursos, llegó a ser uno de los fundadores de la bacteriología junto con Louis Pasteur.

Comenzó a realizar investigaciones sobre microorganismos en un laboratorio conectado a la sala de examen de sus pacientes. Sus primeras investigaciones en este laboratorio produjeron una de sus principales contribuciones al campo de la microbiología, ya que desarrolló la técnica de cultivo de bacterias. Además, logró aislar y cultivar patógenos seleccionados en un cultivo de laboratorio puro.

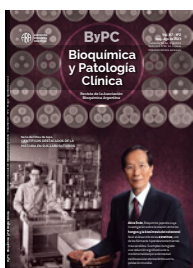
Robert Koch se hizo famoso por descubrir el bacilo de la tuberculosis en 1882, presentando sus hallazgos el 24 de marzo de 1882 a la Sociedad Fisiológica de Berlín, así como el bacilo del cólera en 1883 (después de otros que lo descubrieron independientemente pero no lograron dar a conocer sus descubrimientos internacionalmente) y por el desarrollo de los postulados de Koch son los postulados de Koch, que afirman que para establecer que un organismo sea la causa de una enfermedad, este debe:

- Estar presente en todos los casos en los que se examine la enfermedad, y ausente en organismos sanos.
- Poder ser preparado y mantenido en un cultivo puro.
- Tener la capacidad de producir la infección original, después de varias generaciones en un cultivo.
- Poder inocularse en animales y ser cultivado de nuevo.

Recibió el Premio Nobel de Medicina en 1905 por sus trabajos sobre la tuberculosis. Fue el primero en demostrar definitivamente, mediante experimentos científicos, que una enfermedad específica (el carbunco o ántrax) fue causada por un microorganismo específico.

Los pupilos de Koch descubrieron los organismos responsables de la difteria, el tifus, la neumonía, la gonorrea, la meningitis cerebroespinal, la lepra, la peste pulmonar, el tétanos y la sífilis, entre otros, usando sus métodos.

Robert murió el 27 de mayo de 1910 por un ataque al corazón en Baden-Baden, a la edad de 66 años.



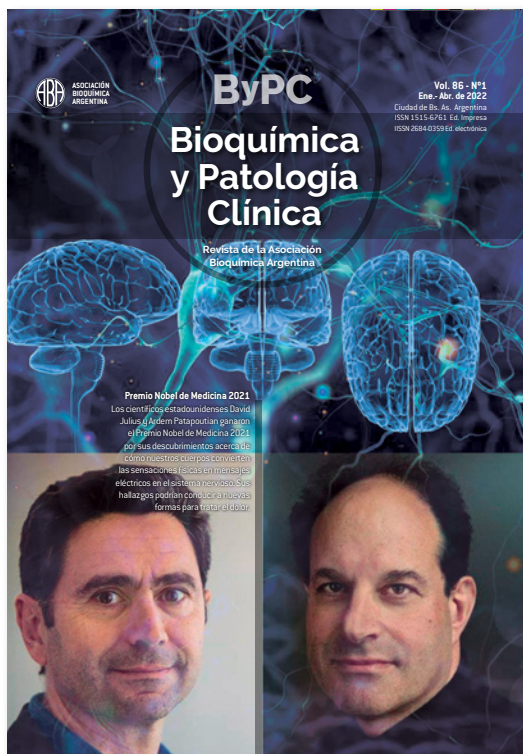
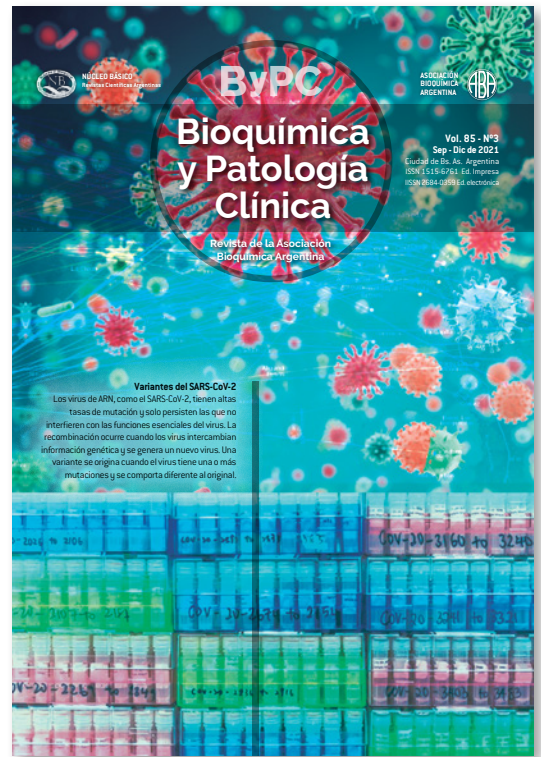
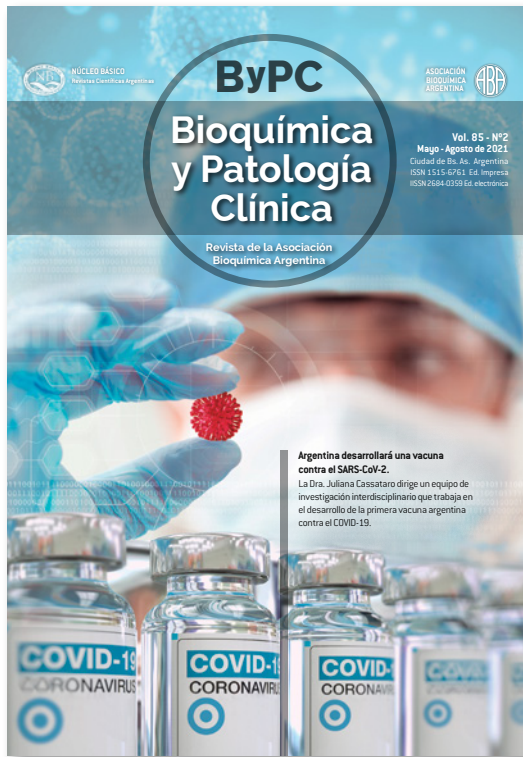
FE DE ERRATAS

Fe de erratas Carballo y col. publicado en ByPC 87.2-2023:

Foto 1

c) tinción de ribete en cepillo de anticuerpos heterófilos

d) anticuerpos anti-mitocondriales



COMISIÓN DIRECTIVA

Presidente: Dra. Silvia B. González
Vicepresidente: Dra. Patricia Otero
Secretaría: Dra. Viviana Osta
Tesorera: Dra. Isabel Desimone

1º Vocal Titular: Dra. María José Rial
2º Vocal Titular: Dr. Eduardo Mormandi
3º Vocal Titular: Dra. María Rugiero

1º Vocal Suplente: Dr. Alberto Villagra.
2º Vocal Suplente: Dra. M. de la Paz
Domínguez
3º Vocal Suplente: Dra. Alejandra Svartz

COMISIÓN REVISORA DE CUENTAS

Titular 1º: Dra. Silvia Morilla
Titular 2º: Dra. Estella Meyer
Titular 3º: Dra. Silvia Cajiao
1º Vocal Suplente: Dra. Graciela Astarita
2º Vocal Suplente: Dra. Claudia Ayuso

COMISIONES INTERNAS

Prensa y Difusión

Presidente: Dra. Rocío Romero
Secretaría: Dra. Florencia Minotti
Vocales: Dr. Eduardo Mormandi
Dra. Fabrina Capece

Certificación

Presidente: Dr. Alberto Villagra
Secretaría: Dra. Viviana Osta
Vocal: Dra. María José Rial

Cursos

Presidente: Dra. Silvia González
Secretaría: Dra. María Soledad Caldirola
Vocales: Dra. María José Rial
Dra. María de la Paz Domínguez
Dra. Alejandra Svartz
Dra. Liliana Maggi
Dra. Rocío Romero
Dra. Laura Colito

Comité Científico Asesor

Dra. Mónica Aixelá
Dr. Gloria Alvarez
Dra. Liliana Arias
Dra. Alicia Blanco
Dr. Orlando Gabriel Carballo
Dra. Silvia González
Dr. César Colino
Dr. Eduardo Mormandi
Dr. Jorge Rey
Dra. María José Rial
Dra. Sandra Rozental
Dra. Gabriela Santiso
Dra. Nora Slobodianik

Premios y distinciones

Dra. Alicia Blanco
Dr. Fernando Brites
Dra. Nilda Fink
Dr. Néstor Litwin
Dr. Miguel Angel De Cristófano

COMISIÓN DE LA REVISTA

Director:

Dr. Fernando D. Brites

Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.
Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Secretaria Científica:

Dra. Fabrina Capece

Hospital General de Niños Pedro Elizalde. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Comité Editorial:

Dr. Orlando Gabriel Carballo

Laboratorio Rossi. Instituto Universitario, Hospital Italiano de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Dra. Isabel Desimone

Hospital Interzonal General de Agudos Evita, Lanús, provincia de Buenos Aires.
Universidad Kennedy, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Dr. Jaime Kovensky

Hospital Dr. Arturo Umberto Illia, Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
Carrera de Medicina, Universidad Nacional de la Matanza, provincia de Buenos Aires, Argentina.

Dr. Julián Verona

Hospital Municipal Subzonal Dr. Felipe Fossati. Balcarce, provincia de Buenos Aires, Argentina.

Asesores:

ESPAÑA

Aresio Plaza Lopez
Luis García de Guadiana Romualdo
Pablo Daniel Lapunzina Badía
EEUU
Carlos Alberto von Mühlen
CHILE
Carlos Calvo Monfil,
URUGUAY
Dora Ruchanzky
Fernando Antúnez
MÉXICO
Ignacio García de la Torre
PARAGUAY
M. Montserrat Blanes González

ARGENTINA

Adriana Factorovich
Alejandra Scaziotta
Alejandra Ginaca
Alberto Lazarowski
Alberto Villagra
Alicia Arechabala
Alicia Blanco
Angela Famiglietti
Belén Bouzas
Carlos Vay
Cesar Collino
Claudia Ayuso
Claudia Menghi
Daniel Bustos
Eduardo Mormandi
Fernando Goldbaum
Gabriel Migliarino
Gabriela Mendeluk
Gabriela Santiso
Gloria Cerrone

Graciela Ponce
Graciela Ramos
Jorge Guarlerik
Jorge Rey
José Margariños
Laura Boero
Leticia Madalena
María José Rial
M. Laura D´Ambrosio
Marta Martinuzzi
Monica Aixelá
Nestor Litwin
Nilda Fink
Nora Slobodianik
Patricia Otero
Patricia Sorroche
Sara Kauffman
Silvia González
Stella Carchio
Viviana Osta

Corrección de estilo:

Lic. Débora Schmer Miranda (Español)
Lic. María Victoria González Eusevi (Inglés)

Secretarios administrativos:

Sr. Gastón Goldberg
Sr. Jorge Signorelli

REGLAMENTO DE PUBLICACIONES

REVISTA BIOQUÍMICA Y PATOLOGÍA CLÍNICA

ASOCIACIÓN BIOQUÍMICA ARGENTINA

Bioquímica y Patología Clínica (ByPC), Revista de la Asociación Bioquímica Argentina, tiene el objetivo de difundir artículos inéditos y originales relacionados con aplicaciones de la bioquímica clínica en todas sus especialidades en el campo asistencial y de investigación clínica humana, así como en bioquímica animal y vegetal. ByPC está destinada a todos los profesionales de la salud interesados en estas áreas. ByPC se publica cuatrimestralmente en ambos formatos, impreso [ISSN 1515-6761] y electrónico [ISSN 2684-0359], sin costo para los autores y no posee propósitos comerciales.

La Comisión de Revista de ByPC está integrada de la siguiente manera:

Director:

Dr. Fernando D. Brites

Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

Secretaria Científica:

Dra. Fabrina Capece

Hospital Pedro Elizalde, Ciudad de Buenos Aires. Ministerio de Salud. Buenos Aires, Argentina.

Comité Editor:

Dr. Orlando Gabriel Carballo

Laboratorio Rossi. Instituto Universitario, Hospital Italiano de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

Dra. Isabel Desimone

Hospital Evita, Lanús, provincia de Buenos Aires. Universidad John F. Kennedy. Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

Dr. Jaime Kovensky

Hospital Arturo U. Illia, Ciudad de Buenos Aires. Universidad Nacional de la Matanza, provincia de Buenos Aires, Argentina.

Dr. Julián Verona

Hospital Dr. Felipe A. Fossati, provincia de Buenos Aires, Argentina.

Correctoras:

Lic. Débora Schmer Miranda [Español]

Lic. María Victoria González Eusevi [Inglés]

Secretarios Administrativos:

Sr. Gastón Goldberg

Sr. Jorge Signorelli

Los trabajos enviados a la Revista ByPC deben ser originales y no deben haber sido publicados o estar postulados simultáneamente en otras revistas u órgano de difusión científica nacional o extranjero, tanto en forma impresa como electrónica. Cabe mencionar que se encuentra absolutamente prohibido la copia textual de texto proveniente de otros artículos y para la detección de plagio la Revista utiliza el software plag.es. Para la preparación de manuscritos, se siguen los requerimientos del International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) disponible en <http://www.icmje.org>. Se pueden consultar guías para publicaciones en <http://www.equator-network.org>, en castellano en <http://www.espanol.equator-network.org>. Una vez aprobada la publicación del trabajo, ByPC retiene los derechos de su reproducción total o parcial. Quienes deseen reproducir material publicado en la revista deben solicitar permiso a ByPC. Igualmente, para incluir material de otras fuentes con derechos de autor en artículos a publicar en la revista, se debe obtener el correspondiente permiso, y adjuntar copia del mismo al artículo propuesto para publicación. Para mayor información respecto a los derechos de los autores, se recomienda consultar el documento disponible en: <http://www.accesoabierto.net/es/node/62>

1. Descripción del proceso de revisión y edición

La modalidad de revisión es por pares académicos a doble ciego. Específicamente, la Comisión de Revista realiza una primera evaluación del trabajo recibido y lo envía a 2 revisores ajenos a la Asociación Bioquímica Argentina, quienes deben ser especialistas reconocidos en el área de incumbencia del trabajo y no deben pertenecer a la misma institución de los autores ni guardar alguna relación conocida con los mismos. Los artículos son enviados a los revisores sin el nombre de los autores, lugar de trabajo, dirección de correspondencia, ni los agradecimientos. Los revisores reciben el trabajo completo acompañado de un formulario guía para la realización de la revisión con tópicos que la Comisión de Revista considera imprescindibles para elaborar el dictamen final. La evaluación efectuada por los revisores debe ser remitida a la Comisión de Revista dentro de los 30 días. El dictamen de los revisores es reservado, así como su identidad, y debe fundamentarse de modo explícito. En caso de discrepancia en el dictamen de los revisores, la Comisión de Revista acudirá a un tercer revisor que cumpla los mismos requisitos que los anteriores. El dictamen es decidido por la Comisión de Revista y es comunicado a los autores. Los resultados del dictamen pueden ser: a) Aceptación sin necesidad de modificaciones adicionales; b) Sugerencia de cambios mayores; c) Sugerencia de cambios menores; y d) Rechazo. Las críticas efectuadas al trabajo, así como un eventual rechazo deben estar debidamente justificados. Los resultados de la evaluación son inapelables. Los autores deberán responder a las sugerencias efectuadas en un plazo no mayor a 30 días, salvo que por la naturaleza de las mismas se requiera de más tiempo. En dicho caso, deberán solicitarlo específicamente al Comisión de Revista.

Una vez que el trabajo ha sido aceptado y se ha efectuado la comunicación a los autores, se procede a la corrección de estilo y ortográfica del mismo, tanto en castellano como en inglés. A continuación, se elabora la prueba de galera, la cual es enviada a los autores, junto con instrucciones para efectuar la corrección de la misma. Los autores cuentan con 5 días hábiles para devolver la prueba de galera corregida.

Posteriormente se procede a la publicación del artículo siendo el auto-archivo posible inmediatamente después (versión post-print corregida). El tiempo transcurrido entre la aceptación del trabajo y la publicación del mismo oscila entre 3 y 5 meses.

2. Requisitos para la remisión de manuscritos

- Doble espacio en todas las partes del manuscrito.
- Empezar cada sección o componente en una nueva página.
- Revisar la secuencia: título; autores; lugares de trabajo; datos del autor de correspondencia; resumen y palabras clave en castellano; título, resumen y palabras clave en inglés americano; introducción; materiales y métodos; resultados; discusión; agradecimientos, referencias bibliográficas, leyendas de las figuras; tablas; y figuras (cada uno en páginas separadas).
- Las ilustraciones no deben ser más grandes que 203 x 254 mm.
- Incluir los permisos para reproducir material publicado previamente o usar ilustraciones que pueden identificar a las personas.
- Incluir las transferencias de derechos de autor y otras solicitudes.

3. Carta

Carta dirigida al Director de la Revista en la cual se solicita la publicación del artículo. Debe contener el título del trabajo, categoría a la cual pertenece (ver ítem 4), nombre y apellido de todos los autores, dirección, teléfonos y dirección de e-mail del autor de contacto, una dirección de e-mail alternativa, una frase con valor de declaración jurada en la que se manifieste que el artículo cumple con todos los requisitos de publicación en ByPC, y que la última versión del manuscrito ha sido leída y aprobada por todos los autores. La recepción de trabajos se realizará mediante el sistema OJS en la web oficial de la Revista ByPC: <http://revista.aba-online.org.ar/>. No se aplicarán cargos por el envío de artículos ni por procesamiento (APC).

Cualquier duda podrá despejarse ingresando al instructivo o solicitar asistencia a: revista@aba.online.org.ar o revistabypc.aba@gmail.com.

4. Categorías a las cuales deberán ser presentados los trabajos

- a) Artículos originales.
- b) Casos clínicos.
- c) Revisiones.
- d) Cartas al Editor.
- e) Informes.
- f) Guías o Consensos.

5. Preparación de los manuscritos

5.1. Generalidades:

El archivo deberá ser nombrado solamente con el apellido del primer autor y la leyenda "y col." si correspondiese [Ej.: Pérez y col]. El texto debe estar dividido en secciones con los títulos de Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión. Los artículos extensos pueden requerir subtítulos dentro de algunas secciones (especialmente en las secciones de Resultados y Discusión) para aclarar sus contenidos. Debe estar escrito en procesador de texto Word, en tamaño de página A4, con márgenes de al menos 25 mm, empleando letra Arial tamaño 12. Usar doble espacio, incluyendo la página del título, resumen, texto, agradecimientos, referencias bibliográficas, tablas individuales y leyendas. Numerar las páginas consecutivamente empezando con la página del título. Poner el número de la página en la esquina inferior derecha de cada página.

5.2. La primera página debe contener:

- a) El título que debe ser conciso pero informativo.
- b) El apellido y luego, separado por coma, los nombres completos de los autores, lo cual debe ir seguido de punto y coma, y los datos del siguiente autor. A continuación del nombre de cada autor, se debe colocar, a modo de superíndice, el número que haga referencia al lugar de trabajo al que pertenece dicho autor. El autor al cual debe ir dirigida la correspondencia debe ser destacado con un asterisco también a modo de superíndice [Ej.: Ramírez, Juan Carlos^{1*}; Benítez, Laura²; Romero, Mario³].
- c) Cada lugar de trabajo con el número asignado al autor correspondiente. No se deben emplear abreviaturas. Debe constar primero el nombre del servicio o laboratorio, luego el correspondiente al departamento y por último el de la institución, todo separado por comas y seguido de punto. A continuación, se debe incluir el nombre de la ciudad, la provincia y el país, también separados por comas y con punto final [Ej.: Laboratorio de Lípidos y Aterosclerosis, Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina].
- d) Nombre completo del autor responsable de recibir la correspondencia, su lugar de trabajo, la dirección postal, y la dirección de e-mail.

5.3. La segunda página debe contener:

- a) El resumen en castellano de no más de 250 palabras. Debe estar estructurado de la siguiente manera: introducción, objetivos, materiales y métodos, resultados y conclusiones. Se deben incluir dichos subtítulos de manera explícita. El resumen debe establecer los propósitos del estudio o investigación, procedimientos básicos (selección de los sujetos de estudio o animales de laboratorio; métodos de observación y analíticos), los hallazgos principales y las conclusiones más relevantes. Debería enfatizarse en los aspectos nuevos e importantes del estudio u observaciones. Se recomienda incluir los valores correspondientes a los hallazgos más relevantes acompañados de la forma de expresión de los mismos [Ej.: Media \pm D.E) y el tratamiento estadístico, si correspondiese. En el resumen no se deben utilizar abreviaturas.

- b) Palabras clave. Los autores deben colocar, e identificar como tales, tres a diez palabras clave o frases cortas que servirán para la indexación cruzada del artículo y deben ser publicadas con el artículo.

5.4. La tercera página debe contener:

- a) Título en inglés americano. Debe cumplir los mismos requisitos que el título en castellano.
- b) Resumen en inglés americano (Abstract). Debe cumplir los mismos requisitos que el resumen en castellano e incluir los siguientes subtítulos: *introduction, objectives, materials and methods, results y conclusions*.
- c) Palabras clave en inglés americano (Key words). Deben cumplir los mismos requisitos que las palabras clave en castellano.

5.5. Las páginas subsiguientes, comenzando cada sección en página aparte, deben contener:

- a) Introducción. En la introducción, se debe expresar el contexto o los antecedentes del estudio (por ejemplo, la naturaleza del problema y su importancia) y enunciar el propósito específico u objetivo de la investigación o la hipótesis que se pone a prueba en el estudio u observación. A menudo, la investigación se centra con más claridad cuando se plantea como pregunta. Tanto los objetivos principales como los secundarios deberán estar claros, y deberá describirse cualquier análisis de subgrupos predefinido. Se deben incluir sólo las referencias que sean estrictamente pertinentes y no añadir datos o conclusiones del trabajo que se presenta.
- b) Materiales y Métodos. Debe describir detalladamente los sujetos experimentales, el equipamiento, los reactivos y los procedimientos utilizados, con la inclusión de las marcas registradas cuando corresponda y referencias al utilizar métodos establecidos. Indicar las consideraciones éticas que correspondan si han participado en el estudio seres humanos (Aprobación por comités de ética y obtención de consentimiento informado). Se recomienda dividir la sección Materiales y Métodos mediante el empleo de subtítulos en el caso de ser demasiado extenso. Incluir una sección de "Análisis de datos" en la cual se describan las formas de expresión de los resultados y los métodos estadísticos empleados, si correspondiese. Estos deben ser descriptos con suficiente detalle para permitir que un lector experto con acceso a los datos originales pueda comprobar los resultados que se presentan. Cuando sea posible, cuantificar los hallazgos y presentarlos con los indicadores de medida de error o de incertidumbre adecuados [como los intervalos de confianza]. Evitar basarse únicamente en la comprobación de hipótesis estadísticas, como el uso de valores P, que no dan información sobre la magnitud del efecto. Siempre que sea posible, las referencias sobre el diseño del estudio y los métodos estadísticos deberán corresponder a manuales o artículos clásicos (con los números de página incluidos). Definir también los términos estadísticos, abreviaturas y la mayoría de símbolos. Especificar el *software* utilizado.
- c) Resultados. Presentar los resultados siguiendo una secuencia lógica en el texto, tablas e ilustraciones, y destacando en primer lugar los hallazgos más importantes. No repetir en el texto los datos de las tablas o ilustraciones; resaltar o resumir sólo las observaciones más importantes. Los materiales extra o suplementarios y los detalles técnicos pueden situarse en un anexo donde se puedan consultar para no interrumpir la secuencia del texto. Cuando los datos se resumen en este apartado, los resultados numéricos no sólo deben presentarse los derivados (por ejemplo, porcentajes), sino también los valores absolutos a partir de los cuales se calcularon, y especificar los métodos estadísticos utilizados para analizarlos. Limitar el número de tablas y figuras a las estrictamente necesarias para ilustrar el tema del artículo y para evaluar su grado de apoyo. Usar gráficos como alternativa a las tablas con muchas entradas; no duplicar datos en los gráficos y tablas. Evitar usos no técnicos de términos

estadísticos, como “azar” (que implica un dispositivo de aleatorización), “normal,” “significativo,” “correlaciones” y “muestra”. Cuando sea científicamente adecuado, incluir análisis en función de variables como la edad y el sexo.

- d) **Discusión.** Destacar los aspectos más novedosos e importantes del estudio y las conclusiones que de ellos se deducen, contextualizándolos en el conjunto de las evidencias más accesibles. No repetir en detalle datos u otro material que aparezca en la Introducción o en el apartado de Resultados. En el caso de estudios experimentales, es útil empezar la discusión resumiendo brevemente los principales resultados; a continuación, explorar los posibles mecanismos o explicaciones de dichos hallazgos, comparar y contrastar los resultados con los de otros estudios relevantes, exponer las limitaciones del estudio, y explorar las implicaciones de los resultados para futuras investigaciones y para la práctica clínica. Relacionar las conclusiones con los objetivos del estudio, evitando hacer afirmaciones rotundas y sacar conclusiones que no estén debidamente respaldadas por los datos. En particular, evitar afirmaciones sobre los costes y beneficios económicos a menos que el manuscrito incluya datos económicos con sus correspondientes análisis. Evitar afirmaciones o alusiones a aspectos de la investigación que no se hayan llevado a término. Cabe la posibilidad de establecer nuevas hipótesis cuando tengan base, pero calificándolas claramente como tales.
- e) **Agradecimientos.** Una o más declaraciones deben especificar (a) Las contribuciones que necesitan agradecerse pero que no justifican una autoría, tales como apoyo general por una jefatura de departamento; (b) Agradecimientos al apoyo técnico; (c) Agradecimiento al apoyo financiero y material, que debe especificar la naturaleza del apoyo; (d) Las relaciones que pueden tener un conflicto de intereses. Las personas que han contribuido intelectualmente al artículo, pero cuyas contribuciones no justifican una autoría, pueden ser mencionadas y sus funciones o contribuciones pueden ser descritas -por ejemplo, “asesor científico”, “revisión crítica de los propósitos del estudio”, “recolección de información” o “participación en el ensayo clínico”; tales personas deben haber dado sus permisos para ser mencionadas. Los autores son responsables de obtener los permisos escritos de las personas a quienes se agradece, porque los lectores pueden inferir su endosamiento de la información y conclusiones. La ayuda técnica debe ser agradecida en un párrafo aparte de los agradecimientos de otras contribuciones.

6. Aspectos que deben tenerse en cuenta en la redacción del manuscrito (Normas Vancouver actualizadas al 2016)

6. 1. Citas bibliográficas:

Es la presentación textual o resumida, de ideas expresadas por otros autores que sirven de apoyo al investigador, se contraponen a lo que él dice o aportan mayor información sobre un tema determinado. Las citas son un tipo de texto incrustado en otro texto.

Las citas en estilo Vancouver por lo general utilizan un sistema de secuencia numérica. Son numeradas consecutivamente en el orden de aparición en el texto. Se identifican con números arábigos entre corchetes, ejemplo [1].

a) Tipo de citas

- **Cita directa:** La que se transcribe textualmente. Ejemplo: “La cita textual breve, de menos de cinco renglones, se inserta dentro del texto entre comillas, y el número correspondiente se coloca al final, después de las comillas y antes del signo de Puntuación” [3].
- **Cita corta:** Menos de cinco renglones.
- **Cita larga:** Más de cinco renglones. Se escribe fuera del texto, dejando doble espacio y sangría, entre comillas y en bastardilla.
- **Cita indirecta:** Mención de las ideas de un autor con palabras de quien escribe. Se escribe dentro del texto sin comillas, el número de

la referencia se escribe inmediatamente después de citar su idea. Ejemplo: La mortalidad infantil conduce a empeorar la calidad de vida de Medellín [5].

b) Tipo de cita según redacción

- **Cita integral:** Es aquella donde el nombre del autor forma parte de la oración. El nombre se integra dentro del texto. El número de la referencia se escribe después del apellido del autor y antes de citar su idea. Ejemplos:
Como dice Londoño [5] la mortalidad infantil conduce a empeorar la calidad de vida de Medellín. Cita Indirecta
Según Sanz Pinyol [1] “Desde el punto de vista de la caracterización de los discursos, en el aula suelen producirse diferentes géneros” Cita directa
- **Cita no integral:** No se menciona el nombre del autor dentro del texto. Ejemplos:
É la mortalidad infantil conduce a empeorar la calidad de vida de Medellín [5]. Cita Indirecta
“Desde el punto de vista de la caracterización de los discursos, en el aula suelen producirse diferentes géneros” [1]. Cita directa

6. 2. Referencias bibliográficas:

- Conjunto de datos suficientemente detallados que permite identificar un documento. Deben ser numeradas consecutivamente en el orden en que son mencionadas en el texto. Identificar las referencias en el texto, cuadros y leyendas con números arábigos entre corchetes. Las referencias citadas sólo en los cuadros o en las leyendas de las figuras deben ser numeradas de acuerdo con la secuencia establecida por la primera identificación en el texto del cuadro o figura particular.
- Usar el estilo basado en los formatos utilizados por el US National Library of Medicine (NLM) en el Index Medicus. Los títulos de las revistas deben ser abreviados de acuerdo al estilo que utiliza el Index Medicus. Consultar la lista de revistas indizadas en el Index Medicus, publicado anualmente como una separata por la NLM y como una relación en el volumen del mes de enero del Index Medicus.
- Evitar el uso de los resúmenes como referencias. Las referencias a artículos aceptados pero no publicados deben ser designadas como “en prensa” o “en avance”; los autores deben obtener permiso por escrito para citar tales artículos así como la verificación de que ellos han sido aceptados para publicación. La información de los manuscritos remitidos pero no aceptados debe ser citada en el texto como “observaciones no publicadas” con el consentimiento escrito de los autores.
- No citar una “comunicación personal” a menos que proporcione información esencial no disponible de una fuente pública, en cuyo caso el nombre de la persona y la fecha de la comunicación deben ser citados entre paréntesis en el texto. Para los artículos científicos, los autores deben obtener permiso por escrito y confirmación de exactitud de la fuente de la comunicación personal.
- Las referencias deben ser verificadas por el autor o autores en los documentos originales.
- El estilo de Requisitos Uniformes (de Vancouver) se basa principalmente en el estilo estándar ANSI adaptado por la NLM para su base de datos.

a) Artículos de revistas

- Mencionar los seis primeros autores seguidos por et al (Nota: la NLM ahora menciona hasta 25 autores; si hay más de 25 autores, la NLM menciona los 24 primeros, luego el último autor seguido de et al): Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreaticobiliary disease. Ann Intern Med 1996;jun 1; 124 (11): 980-3.
Como una opción, si una revista lleva paginación continua a través de un volumen (como muchas revistas médicas lo hacen), el mes y el número del volumen pueden ser omitidos: Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreaticobiliary disease. Ann Intern Med 1996; 124: 980-3.

- Más de seis autores:
Parkin DM, Clayton D, Black RJ, Masuyer E, Friedl HP, Ivanov E, et al. Childhood leukaemia in Europe after Chernobyl: 5 year follow-up. *Br J Cancer* 1996; 73: 1006-12.
 - La organización como autor:
The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guide-lines. *Med J Aust* 1996; 164:2824.
 - Sin autor mencionado:
Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J* 1994; 84: 14.
 - Artículo no escrito en inglés:
Ryder TE, Haukeland EA, Solhaug JH. Bilateral inftapatellar seneruptur hos tidligere frisk kv-vinne. *Tdsskr Nor Laegeforen* 1996; 116: 412.
 - Volumen con suplemento:
Shen M Zhang QF. Risk assesment of nikel carcinogenicity and occupational lung cancer *Environ Health Perspect* 1994; 102 Suppl 1: 275-82.
 - Número con suplemento:
Paybe DK, Sullivan ME, Massie MJ. Women's psychological reactions to breast cancer. *Semin Oncol* 1996; 23 (1 Suppl 2. 89-97).
 - Volumen con parte:
Ozben T, Nacirharhan S, Tuncer N. Plasma and urine sialic acid in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Ann Clin Biochem* 1995; 32 [Pt 3]: 303-6.
 - Número con parte
People GH, Mills SM. One Hundred consecutive cases of flap lacerations of the leg in ageing patients. *N Z Med J* 1994;107 (986 PH): 377-8.
 - Número sin volumen
Turan I, Wredmark T, Fellander-Tsai L. Arthroscopic ankle arthrodesis in rheumatoid arthritis. *Clin Orthop* 1995; (320): 110-4.
 - Sin número, ni volumen:
Browell DA, Lennard TW. Immunologic status of the cancer patient and the effects of blood transfusion on antitumor responses. *Curr Opin Gen Surg* 1993; 325-33.
 - Compaginación en números romanos:
Fisher GA, Sikie BI. Drug in clinical oncology and hematology. Introduction. *Hematol Oncol Clin North Am* 1995 Apr 9(2): xi xii.
 - Tipo de artículo indizado tal como es requerido:
Enzensberger W, Fischer PA. Metronome in Parkinson's disease [carta]. *Lancet* 1996; 347 1337.
- Clement J, De Bock R. Hematological complications of hantavirus nephropathy (HVN) [resumen] *Kidney Int* 1992; 42: 1285.
- Artículo conteniendo una retractación:
Garcy CE, Schwarzman AL, Rise ML. Ceruloplasmin gene defect associated with epilepsy in EL mice [retraction de Garey CE, Schwarzman AL, Rise ML. In: *Nat Genet* 1994; 6.: 426-31]. *Nat Genet* 1995,11: 104.
 - Artículo retractado:
Liou GI, Wang M, Matragoon S. Precocious IRBPgene expresion during mouse development [retractado en *Invest Ophthalmo Vis Sci* 1994; 35: 31271. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35: 1083-8.
 - Artículo con errata publicada:
Hamlim JA, Kahn AM. Herniorraphy in symptomatic patients following inguinal hernia repair [publicado con errata en *West J Med* 1995; 162. 2781]. *West J Med* 1995; 162 28-31.
- b) Libros y otras monografías
- Autor [o autores] personal:
Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publisher; 1996.
 - El editor(es), compilador(es) como autor:
Norman IJ, Redfern SJ, editors. Mental health care for elderly people. New York; Churchill Livingstone; 1996.
 - Una organización como autor y editor:
Institute of Medicine [US]. Looking at the future of the Medical program. Washington [DC]: The Institute; 1992).
- Un capítulo en un libro:
Phillips SJ, Whisnant JP Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. *Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management*. 2nd ed. New York: Kaven Press; 1995. p. 465-78.
 - Libro de congreso:
Kimura J, Shibasaki H, editors. Recent advances in clinical neurophysiology. Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology; 199 Oct 1519; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier;1996.
 - Ponencia de un congreso:
Bengtsson S, Solheim BG. Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics. In: Lun KC, Degouler P, Piemme TE, Rienhoff O, editors *MEDINFO 92 m Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics*; 1992 Sep 6-10, Geneva, Switzerland. Amsterdam: North-Holland; 1992. p. 1561-5.
- c) Informe científico o técnico
- Emitido por la agencia financiante o auspiciadora:
Smith P, Golladay K Payment for durable medical equipment billed during skilled nursing facility stays. Final report Dallas (TX): Dept. of Health and Human Services (US), Oficce of Evaluation and Inspections; 1994 Oct. Report N° HHSIGOEI69200860.
 - Emitido por la agencia ejecutante:
Field MJ, Tranquada RE, FeasleyJC, editors. Health services research: work force and educational issues. Washington: National Academy Press; 1995. Contract N°AHCPR282942008. Sponsored by the Agency for Health Care Policy and Research.
- d) Disertación
- Kaplan SJ. Post-hospital home health care; the elderly's access and utilization [dissertation]. St Louis (MO): Washington Univ; 1995.
- e) Patente
- Larsen CE, Trip R, Johnson CR, inventors; Novoste Corporation, assignance. Methods for procedures related to the electrophysiology of the heart. US patent 5.529,067, 1995 Jun Material publicado.
- f) Artículo de periódico
- Lee G. Hospitalizations tied to ozone pollution: study estimates 5000 admissions annually. *The Washington Post* 1996; jun 21; Sect. A:3 [col5].
- g) Material audiovisual
- HIV+/AIDS: the facts and the future [videocassettel. St Louis (MO): Mosby-Year Book 1995.
- c) Material legal
- h) Ley Pública
- Preventive Health Amendments of 1993, PubL. N° 103-183,107Stat, 2226 [Dec. 14, 1993].
- i) Dispositivo no decretado
- Medical Records Confidentiality Act of 1995, S. 1360, 104th Cong. 1st Sess [1995].
- j) Código de regulaciones federales
- Informed Consent, 42 C.F.R. Sect. 441. 257 [1995].
- k) Material inédito
- En prensa o "en avance":
Leshner AI. Molecular mechanisms of cocaine addiction. *N Eng J Med*. En prensa 1997
- l) Material electrónico
- Artículo de una revista en formato electrónico:
Morse SS. Factors in the emergence of infections diseases. *Emerg Infect Dis* [serial on line] 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5], 1(1): [24 screens]. Available from: VRL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>.
 - Monografía en formato electrónico:
CDI, clinical dermatology illustrated [monograph on CD-ROM]. Reeves JRT, Malbach H, CMEA Multimedia Group, producers. 2nd ed. Version 20. San Diego: CMEA; 1995.
 - Archivo computarizado:
Hemodynamics 111: the ups and downs of hemodynamics [computer

program]. Version 2.2 Orlando (FL): Computerized Educational Systems; 1993.

7. Tablas

Todas las tablas deben agruparse a continuación de las leyendas de las figuras, cada una en página separada. Deberán estar numeradas secuencialmente con números romanos, contener un título y aclaraciones al pie de la tabla, si fuese necesario. Al pie de cada tabla debe figurar la aclaración de las abreviaturas empleadas, así como toda la información relacionada con la forma de expresión de los resultados y el tratamiento estadístico que los autores consideren necesaria. Las tablas deben ser comprensibles por sí mismas. Para la elaboración de las tablas, se recomienda utilizar el procesador de texto Word y seleccionar el Estilo de Tabla "Tabla básica 1".

8. Figuras

Todas las figuras deben agruparse a continuación de las tablas, cada una en página separada. Deberán estar numeradas secuencialmente con números arábigos. Las fotografías y las figuras podrán tener colores, aunque en el caso de las figuras el fondo debe ser blanco. El título de las figuras no debe incluirse junto a las mismas sino en la sección "Leyendas de Figuras". En dicha leyenda debe incluirse el título de la figura, la aclaración de las abreviaturas empleadas y toda la información relacionada con la forma de expresión de los resultados y el tratamiento estadístico que los autores consideren necesaria. En caso de figuras, fotografías o tablas tomadas de otra publicación, se debe citar la fuente y además enviar el permiso escrito otorgado por el propietario intelectual de dicho material para que el mismo sea publicado en ByPC.

9. Revisiones, cartas al editor, informes guías y consensos

Las revisiones, cartas al editor, informes guías y consensos serán usualmente solicitados por el Comité Editorial de la Revista a autores considerados expertos en el campo, la disciplina o la especialidad en cuestión. Sin embargo, serán consideradas para su publicación las que fueran enviadas espontáneamente. Deberán seguir los lineamientos expuestos para la publicación de artículos originales, con la diferencia de que su texto no necesitará contar con resultados y discusión. En el caso particular de las revisiones, deben contener un mínimo de 20 referencias bibliográficas completas y actualizadas a los fines del tema tratado.

10. Ortografía y formas de expresión

- Se debe evitar la utilización de palabras en otros idiomas y, cuando ello sea indispensable, deberán ser colocadas en itálica [Ej.: *in vitro*].
- El estadístico "p" debe ser escrito en minúscula.
- En la expresión de los resultados, se debe dejar espacio entre la cifras y los símbolos o las unidades [Ej.: $p < 0,05$; $32 \pm 2 \text{ g/l}$].
- Unidades: se deben emplear las unidades utilizadas más frecuentemente en nuestro medio para cada analito [Ej.: glucosa, urea, ácido úrico, lípidos, lipoproteínas, apoproteínas en mg/dl].
- Las abreviaturas deben ser aclaradas la primera vez que aparecen en el texto ubicándolas entre paréntesis, a pesar de que se trate de abreviaturas ampliamente conocidas [Ej. hemoglobina (Hb)]. A su vez, siempre deben ir seguidas de un punto.
- En la expresión de los resultados, tanto la media como la mediana deben contener la misma cantidad de decimales que sus respectivos desvíos estándar, errores, percentilos o rangos [Ej. $9,25 \pm 0,78$].
- En la expresión de los resultados, la separación entre el entero y los decimales se debe hacer mediante comas y no con puntos lo cual es propio del idioma inglés (3,25), excepto para el resumen en inglés (*Abstract*), en el cual se deben emplear puntos (3.25).
- En el texto, cuando un número aparece al principio de la oración, deberá ser escrito en letras [Ej. Veinte pacientes..].



REVISTA BIOQUÍMICA Y PATOLOGÍA CLÍNICA

Por favor, tenga a bien responder las siguientes preguntas por SI o por NO y realice todos los comentarios que justifiquen su respuesta. Si lo considera necesario, puede agregar otros ítems no incluidos en el formulario.

Sus comentarios serán remitidos al autor sin identificar la fuente y sus sugerencias serán de gran ayuda para éste y para los editores de la Revista.

Formulario Guía para la evaluación de manuscritos

SECCIÓN	SI/NO	COMENTARIOS		
Título				
¿Contiene el objeto de estudio y menciona las principales variables estudiadas?				
¿Emplea abreviaturas, acrónimos, símbolos o fórmulas poco conocidas?				
¿Es una representación breve y precisa del contenido del artículo?				
Introducción				
¿Están bien resumidos los antecedentes del tema de estudio y son pertinentes al mismo?				
¿Está claramente definido el objetivo principal?				
Materiales y métodos				
¿La población y / o muestra estudiada está claramente definida?				
¿Se menciona con claridad el diseño metodológico?				
¿Los métodos aplicados están desarrollados con claridad y suficientes detalles?				
¿El tratamiento estadístico es el adecuado?				
Resultados				
¿Los datos están bien presentados?				
¿Las tablas, las figuras y los gráficos son comprensibles?				
¿Existen tablas, gráficos o figuras que deban cambiarse, eliminarse o ser agregados?				
¿Existe duplicación de la información entre el texto, las tablas, las figuras y/o gráficos?				
Discusión				
¿Los resultados son adecuadamente discutidos?				
¿Se confrontan con referencias actualizadas de otros autores pertinentes?				
¿Existen errores de cálculo, interpretación u omisión?				
Conclusiones				
¿Las conclusiones se soportan en los datos obtenidos?				
¿Son correctas y acordes al objetivo planteado para este estudio?				
Referencias bibliográficas				
¿Se mencionan completamente todas las referencias bibliográficas citadas en el trabajo?				
¿Se consignan con el formato establecido para la revista?				
Modificaciones sugeridas y recomendaciones para el/los autor/es				
Comentarios exclusivos para el editor				
Dictamen	Aceptar <input type="checkbox"/>	Aceptar con cambios menores <input type="checkbox"/>	Aceptar con cambios mayores <input type="checkbox"/>	Rechazar <input type="checkbox"/>

PUBLICATIONS REGULATION

BIOCHEMICAL AND CLINICAL PATHOLOGY JOURNAL

BIOCHEMICAL ASSOCIATION ARGENTINA

Biochemistry and Clinical Pathology (ByPC) is the Journal of the Argentine Biochemical Association, it aims to divulge unpublished and original articles related to applications of clinical biochemistry and its specialties like healthcare and human clinical research, as well as in biochemistry animal and vegetable. ByPC is intended for all health professionals interested in these areas. ByPC is published quarterly in both formats, printed [ISSN 1515-6761] and electronic [ISSN 2684-0359], cost free for the authors and has no commercial purposes.

ByPC Magazine Commission Members

Director:

Dr. Fernando D. Brites

Pharmacy and Biochemistry Faculty, Buenos Aires University. National Council for Scientific and Technical Research. Buenos Aires City, Argentina.

Scientific Secretary:

Dr. Fabrina Capece

Pedro Elizalde Children's Hospital. Buenos Aires City. Health Ministry, Buenos Aires province, Argentina.

Editorial Committee:

Dr. Orlando Gabriel Carballo

Laboratorio Rossi. Instituto Universitario, Hospital Italiano de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Dra. Isabel Desimone

Evita Hospital, Lanús, Buenos Aires province. Kennedy University, Buenos Aires City, Argentina.

Dr. Jaime Kovensky

Dr. Arturo Umberto Illia Hospital, Buenos Aires City, Argentina. La Matanza National University, Buenos Aires province, Argentina.

Dr. Julián Verona

Dr. Felipe Fossati Hospital. Buenos Aires province, Argentina.

Language checker

Lic. Débora Schmer Miranda (Spanish)

Lic. María Victoria González Eusevi (English)

Administrative Secretaries

Mr. Gastón Goldberg

Mr. Jorge Signorelli

The works sent to the ByPC magazine must not have been published or be published simultaneously in other magazines and bodies of national or foreign scientific dissemination, in printed and electronic form. It is worth mentioning that textual copying of text from other articles is absolutely prohibited. For the detection of plagiarism the ByPC Magazine uses the *plag.es* software. For the preparation of manuscripts follow the requirements of the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) available at <http://www.icmje.org>. Guides for publications can be consulted at <http://www.equatornetwork.org>, available in Spanish at <http://www.espanol.equator-network.org>. Once the publication of the work has been approved, ByPC retains the rights to its total or partial reproduction. Those who wish to reproduce material published in the magazine must request permission from ByPC. Likewise, to include material from other sources with copyright in articles to be published in the journal, the corresponding permission must be obtained, and a copy of it must be attached to the article proposed for publication. For more information regarding the rights of the authors, it is recommended to consult the document available at <http://www.accesoabierto.net/es/node/62>.

1. Description of the revision and editing process

The review modality is by double-blind academic peers. Specifically, the Journal Commission carries out a first evaluation of the work received and sends it to two reviewers outside the Argentine Biochemical Association, who must be recognized specialists in the area of responsibility for the work. They must not belong to the same institution as the authors of the article or have any known relationship with them. Articles are sent to the reviewers without the name of the authors, workplace, address of correspondence, nor the thanks, safeguarding anonymity. The reviewers receive the complete work accompanied by a guide form for the review with topics that the Magazine Commission considers essential to prepare the final opinion. The evaluation made by the reviewers must be sent to the Magazine Commission within the following 30 days. The opinion of the reviewers must be explicitly based, it is reserved, as well as their identity. In case of discrepancy in the opinion, the Review Commission will go to a third reviewer who meets the same requirements as the previous ones. The opinion is decided by the Magazine Commission and is communicated to the authors. The results of the opinion can be: a) Acceptance without the need for additional modifications; b) Suggestion of major changes; c) Suggestion of minor changes; and d) Rejection. The criticisms made of the work, as well as an eventual rejection, must be duly justified. The evaluation results are final. The authors must respond to the suggestions made within a period not exceeding 30 days from the receipt thereof, except that due to the nature of the suggestions, a longer period of time is required. In this case, they must specifically request it from the Magazine Commission. Once the work has been accepted and communication has been made to the authors, the style and spelling correction is carried out, in both Spanish and English. Next, the galley test is prepared, which is sent to the authors, along with the instructions to make the correction. The authors have 5 working days to send the corrected galley proof to the Magazine. After the article is published, I feel the possible self-archiving immediately afterwards (post-print version corrected). The time elapsed between accepting the job and publishing it ranges from 3 to 5 months.

2. Requirements for the submission of manuscripts

- Double space in all parts of the manuscript (double line spacing).
- Start each section or component on a new page.
- Review the sequence: title; authors; work places; details of the author of the correspondence; abstract and keywords in castilian; title, abstract and keywords in American English; introduction; materials and methods; results; discussion; acknowledgments, bibliographic references, figure legends; boards; and figures (each on separate pages).
- Illustrations must be no larger than 203 x 254 mm.
- Include permissions to reproduce previously published material or use illustrations that can identify people.
- Include copyright transfers and other requests.

3. Letter

Letter addressed to the Director of the Magazine in which the publication of the article is requested. It must contain the title of the work, the category to which it belongs (see item 4), name and surname of all the authors, address, telephone numbers and e-mail address of the contact author, an alternative e-mail address, a phrase with the value of an affidavit stating that the article meets all the publication requirements in ByPC, and that the latest version of the manuscript has been read and approved by all the authors. The works should be done through the OJS system on the official website of the ByPC Magazine: <http://revista.aba-online.org.ar/>. No work will be received outside of this system. There are no item shipping or processing charges [APC]. Any questions can be cleared by entering the instructions or request assistance to revista@aba-online.org.ar or revistabypc.aba@gmail.com. dne

4. Categories to which the works must be submitted

- a) Original articles
- b) Clinical cases
- c) Reviews
- d) Letters to the Editor
- e) Reports
- f) Guides or Consensus

5. Preparation of the manuscripts

5.1. Overview:

The file should be named only with the last name of the first author and the legend "y col." if applicable (Ex.: Pérez et al.). The text should be divided into sections, with the titles of Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion. Long articles may require subtitles within some sections (especially in the Results and Discussion sections) to clarify their content. Must be written in Word word processor, in A4 page size, with margins of at least 25 mm, using Arial font size 12. Use double space (double line spacing), including title page, abstract, body text of the manuscript, acknowledgments, bibliographic references, individual tables and legends. Number the pages consecutively starting with the title page. Put the page number in the lower right corner of each page.

5.2. The first page must contain:

- a) The title that must be concise but informative.
- b) The surname and then, separated by a comma, the names of authors' full, which must be followed by a semicolon, and the data of the next author. Following the name of each author, the number that refers to the workplace to which the author belongs, as a superscript. The author to whom the correspondence should be addressed should be highlighted with an asterisk also as a superscript (Ex.: Ramírez, Juan Carlos1*; Benitez, Laura2; Romero, Mario3).
- c) Each workplace with the number assigned to the corresponding author. Abbreviations should not be used. The name of the service or laboratory must first appear, then the department or section, and finally the institution, all separated by commas and followed by period. Next, the name of the city, province and country must be included, also separated by commas and with an end point (Ex: Lipid and Atherosclerosis Laboratory, Department of Clinical Biochemistry, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Buenos Aires, Autonomous City of Buenos Aires, Argentina).
- d) Full name of the author responsible for receiving the correspondence, their place of work, the postal address, and the e-mail address.

5.3. The second page must contain:

- a) The summary in Spanish of no more than 250 words. It must be structured as follows: introduction, objectives, materials and methods, results and conclusions. Such subtitles must be explicitly included. The abstract should establish the purposes of the study or investigation, basic procedures (selection of study subjects or laboratory animals; observation and analytical methods), the main findings and the most relevant conclusions. Emphasis should be placed on new and important aspects of the study or observations. It is recommended to include the values corresponding to the most relevant findings accompanied by the form of expression thereof (Ex.: Mean \pm SD) and statistical treatment, if applicable. Abbreviations should not be used in the abstract.
- b) Keywords. Authors should place, and identify as such, three to ten keywords or short phrases that will serve to cross-index the article and must be published with the article.

5.4. The third page must contain:

- a) Title in American English. Must meet the same requirements as the title in Spanish.
- b) Summary in American English, titled with the word Abstract. It must meet the same requirements as the abstract in Spanish and include the following subtitles: introduction, objectives, materials and methods, results and conclusions.
- c) Key words in American English (Key words). They must meet the same requirements as the keywords in Spanish.

5.5. Subsequent pages, beginning each section on a separate page, must contain:

- a) Introduction. In the introduction, you should express the context or background of the study (for example, the nature of the problem and its importance) and state the specific or objective purpose of the research or the hypothesis that is tested in the study or observation. Often the research focuses more clearly when asked as a question. Both the primary and secondary objectives should be clear. Only bibliographic references that are strictly relevant should be included and no data or conclusions from the work presented should be added.
- b) Materials and Methods. You should describe in detail the experimental subjects, equipment, reagents, and procedures used, including trademarks where applicable and references when using established methods. Indicate the ethical considerations that apply if human beings have participated in the study (approval by Ethics Committees and obtaining Informed Consent). It is recommended to divide the Materials and Methods section by using subtitles if it is too long. Include a "Data analysis" section in which the forms of expression of the results and the statistical methods used are described, if applicable. These should be described in sufficient detail to allow an expert reader with access to the original data to verify the results presented. Whenever possible, quantify the findings and present them with appropriate measurement indicators of error or uncertainty (such as confidence intervals). Avoid relying solely on the testing of statistical hypotheses, such as the use of P values, which do not give information on the magnitude of the effect. Whenever possible, references to study design and statistical methods should correspond to classic manuals or articles (with page numbers included). Also define statistical terms, abbreviations and most symbols. Specify the software used and the sample size calculation (if applicable).
- c) Results. Present the results following a logical sequence in the text, tables and illustrations, and highlighting the most important findings first. Do not repeat the data in the tables or illustrations in the text; highlight or summarize only the most important observations. Extra or supplementary materials and technical details can be placed in an annex where they can be consulted for non-interrupt the text sequence. Limit the number of tables and figures to those strictly necessary to illustrate the topic of the article and to assess its degree of support. Use graphics as an alternative to tables with many inputs; do not duplicate data in graphs and tables. Avoid non-technical uses of statistical terms, such as "chance" (which implies a randomization device), "normal," "significant," "correlations" and "sample". When scientifically appropriate, include analysis based on variables such as age and sex.
- d) Discussion. To highlight the most novel and important aspects of the study and the conclusions that are deduced from them, contextualizing them in the set of the most accessible evidences. Do not repeat in detail data or other material that appears in the Introduction or in the Results section. In the case of experimental studies, it is useful to start the discussion by briefly summarizing the main results; next, explore the possible mechanisms or explanations of these findings, compare and contrast the results

with those of other relevant studies, expose the limitations of the study, and explore the implications of the results for future research and clinical practice. Relate the conclusions to the objectives of the study, avoiding making clear statements and drawing conclusions that are not properly supported by the data. In particular, avoid claims about economic costs and benefits unless the manuscript includes economic data with its corresponding analyses. Avoid claims or allusions to aspects of the investigation that have not been completed. It is possible to establish new hypotheses when they are based, but clearly qualifying them as such.

e) Acknowledgments. One or more statements must specify (a) Contributions that need to be thanked but do not warrant authorship, such as general support by a department head; (b) Thanks to technical support; (c) Acknowledgment of the financial and material support, which must specify the nature of the support; (d) Relationships that may have a conflict of interest. People who have contributed intellectually to the article, but whose contributions do not justify authorship, can be mentioned and their functions or contributions can be described -for example, "scientific advisor", "critical review of the study's purposes", "information gathering" or "participation in the clinical trial"; such persons must have given their permissions to be mentioned. Authors are responsible for obtaining the written permissions of those whom they are thanked, because readers can infer their endorsement of the information and conclusions. Technical assistance should be appreciated in a paragraph apart from the acknowledgments of other contributions.

6. Aspects that must be taken into account in the writing of the manuscript (Vancouver Rules updated to 2016)

6.1. Bibliographic citations:

It is the textual or summarized presentation of ideas expressed by other authors that support the researcher, they are opposed to what he says or provide more information on a given topic. Quotations are a type of text embedded in other text. Vancouver-style dating usually uses a number sequence system. They are numbered consecutively in the order of appearance in the text. They are identified by Arabic numbers in square brackets, example [1].

a) Type of appointments

- Direct quote: The one that is transcribed verbatim. Example: "The short textual quotation, of less than five lines, is inserted within the text in quotation marks, and the corresponding number is placed at the end, after the quotation marks and before the Punctuation mark" [3].
- Short appointment: Less than five lines.
- Long appointment: More than five lines. It is written outside the text, leaving double space and indentation, between quotation marks and italics.
- Indirect citation: Mention of the ideas of an author in the words of the writer. It is written inside the text without quotes, the reference number is written immediately after quoting your idea. Example: Infant mortality leads to worsening quality of life in Medellín [5].

b) Type of appointment according to wording

- Full quote: It is the one where the author's name is part of the sentence. The name is integrated into the text. The reference number is written after the author's last name and before citing her idea.

Examples:

As Londoño [5] says infant mortality leads to worsening the quality of life in Medellín. Indirect Quote

According to Sanz Pinyol [1] "From the point of view of the char-

acterization of discourses, different genres tend to occur in the classroom" Direct quote

- Non-integral quote: The author's name is not mentioned in the text. Examples:

... infant mortality leads to worsening the quality of life in Medellín [5]. Indirect Quote

"From the point of view of the characterization of discourses, different genres tend to occur in the classroom" [1]. Direct appointment

6.2. Bibliographic references:

- Sufficiently detailed data set to identify a document. They must be numbered consecutively in the order in which they are mentioned in the text. Identify the references in the text, tables and legends with Arabic numbers between square brackets. References cited only in the tables or in the legends of the figures must be numbered according to the sequence established by the first identification in the text of the particular table or figure.
- Use the style based on the formats used by the US National Library of Medicine (NLM) in the Index Medicus. Journal titles should be abbreviated according to the style used by the Index Medicus. Consult the list of journals indexed in the Index Medicus, published annually as a reprint by the NLM and as a relation in the January volume of the Index Medicus.
 - Avoid using abstracts as references. References to accepted but unpublished articles should be designated as "in press" or "in advance"; Authors must obtain written permission to cite such articles as well as verification that they have been accepted for publication. The information of the manuscripts submitted but not accepted must be cited in the text as "unpublished observations" with the written consent of the authors.
 - Do not quote a "personal communication" unless you provide essential information not available from a public source, in which case the name of the person and the date of the communication must be cited in parentheses in the text. For scientific articles, authors must obtain written permission and confirmation of accuracy from the source of the personal communication.
- References must be verified by the author or authors in the original documents.
- The Uniform Requirements (Vancouver) style is based primarily on the ANSI standard style adapted by the NLM for its database.

a) Journal articles

- Mention the first six authors / es followed by et al (Note: the NLM now mentions up to 25 authors; if there are more than 25 authors, the NLM mentions the first 24, then the last author / a followed by et al): Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996 Jun 1; 124 [11]: 980-3. As an option, if a journal carries continuous paging through a volume (as many medical journals do), the month and volume number may be omitted: Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996; 124: 980-3.
- More than six authors: Parkin DM, Clayton D, Black RJ, Masuyer E, Friedl HP, Ivanov E, et al. Childhood leukaemia in Europe after Chernobyl: 5 year follow-up. *Br J Cancer* 1996; 73: 1006-12.
- The organization as author: The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guide-lines. *Med J Aust* 1996; 164: 2824.
- Without mentioned author: Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J* 1994; 84: 14.
- Article not written in English:

- Ryder TE, Haukeland EA, Solhaug JH. Bilateral infatpatellar sen-
eruptur hos tidligere frisk kv-vinne. Tdsskr Nor Laegeforen 1996;
116: 412.
- Volume with supplement:
Shen M Zhang QF. Risk assesement of nikel carcinogenicity and
occupational lung cancer Environ Health Perspect 1994; 102 Sup-
pl 1: 275-82.
 - Number with supplement:
Paybe DK, Sullivan ME, Massie MJ. Women's psychological reac-
tions to breast cancer. Semin Oncol 1996; 23 [1 Suppl 2. 89-97].
 - Volume with part:
Ozben T, Nacirarhan S, Tuncer N. Plasma and urine sialic acid in
non-insulin dependent diabetes mellitus. Ann Clin Biochem 1995;
32 [Pt 3]: 303-6.
 - Number with part
People GH, Mills SM. One Hundred consecutive cases offlap lacera-
tions of the leg in aging patients. N Z Med J 1994;107 [986 PH]:
377-8.
 - Number without volume
Turan I, Wredmark T, Fellander-Tsai L. Arthroscopic ankle arthrodi-
esis in rheumatoid arthritis. Clin Orthop 1995; [320]: 110-4.
 - No number, no volume:
Browell DA, Lennard TW. Immunologic status of the cancer patient
and the effects of blood transfusion on antitumor responses. Curr
Opin Gen Surg 1993; 325-33.
 - Collation in Roman numerals:
Fisher GA, Sikie BI. Drug in clinical oncology and hematology. Intro-
duction. Hematol Oncol Clin North Am 1995 Apr 9 [2]: xi xii.
 - Type of article indexed as required:
Enzensberger W, Fischer PA. Metronome in Parkinson's disease
[letter]. Lancet 1996; 347 1337.
Clement J, De Bock R. Hematological complications of hantavirus
nephropathy (HVN) [abstract] Kidney Int 1992; 42: 1285.
 - Article containing a retraction:
Garcy CE, Schwarzman AL, Rise ML. Ceruloplasmin gene defect as-
sociated with epilepsy in EL mice [retraction of Garey CE, Schwarz-
man AL, Rise ML. In: Nat Genet 1994; 6: 426-31]. Nat Genet 1995,
11: 104.
 - Retracted article:
Liou GI, Wang M, Matragoon S. Precocious IRBPgene expression
during mouse development [retracted in Invest Ophthalmol Vis Sci
1994; 35: 31271. Invest Ophthalmol Vis Sci 1994; 35: 1083-8.
 - Article with errata published:
Hamlim JA, Kahn AM. Herniorraphy in symptomatic patients follow-
ing inguinal hernia repair [published with typo in West J Med 1995;
162. 2781]. West J Med 1995; 162 28-31.
- b) Books and other monographs
- Personal author [or authors]:
Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses.
2nd ed. Albany (NY): Delmar Publisher; nineteen ninety six.
 - The editor [s], compiler [s] as author:
Norman IJ, Redfern SJ, editors. Mental health care for elderly peo-
ple. New York; Churchill Livingstone; nineteen ninety six.
 - An organization as author and editor:
Institute of Medicine [US]. Looking at the future of the Medical pro-
gram. Washington [DC]: The Institute; 1992].
 - A chapter in a book:
Phillips SJ, Whisnant JP Hypertension and stroke. In: Laragh JH,
Brenner BM, editors. Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and
management. 2nd ed. New York: Kaven Press; 1995. p. 465-78.
 - Congress book:
Kimura J, Shibasaki H, editors. Recent advances in clinical neu-
rophysiology. Proceedings of the 10th International Congress of
EMG and Clinical Neurophysiology; 199 Oct 1519; Kyoto, Japan.
Amsterdam: Elsevier; 1996.
 - Presentation of a congress:
Bengtsson S, Solheim BG. Enforcement of data protection, pri-
vacy and security in medical informatics. In: Mon KC, Degouler P,
Piemme TE, Rienhoff O, editors MEDINFO 92 m Proceedings of the
7th World Congress on Medical Informatics; 1992 Sep 6-10, Ge-
neva, Switzerland. Amsterdam: North-Holland; 1992. p. 1561-5.
- c) Scientific or technical report
- Issued by the funding or sponsoring agency:
Smith P, Golladay K Payment for durable medical equipment billed
during skilled nursing facility stays. Final report Dallas (TX): Dept.
of Health and Human Services [US], Oficce of Evaluation and In-
spections; 1994 Oct. Report N ° HHSIGOEI69200860.
 - Issued by the executing agency:
Field MJ, Tranquada RE, FeasleyJC, editors. Health services re-
search: work force and educational issues. Washington: National
Academy Press; 1995. Contract No. AHCPR282942008. Sponsored
by the Agency for Health Care Policy and Research.
- d) Dissertation
- Kaplan SJ. Post-hospital home health care; the elderly's access
and utilization [dissertation]. St Louis (MO): Washington Univ;
nineteen ninety five.
- e) Patent
- Larsen CE, Trip R, Johnson CR, inventors; Novoste Corporation, as-
signance. Methods for procedures related to the electrophysiol-ogy
of the heart. US patent 5,529,067, 1995 Jun Published material.
- f) Newspaper article
- Lee G. Hospitalizations tied to ozone pollution: study estimates
5000 admissions annually. The Washington Post 1996; Jun 21;
Sect. A: 3 [col5].
- g) Audiovisual material
- HIV + / AIDS: the facts and the future [videocassetel. St Louis
(MO): Mosby-Year Book 1995.
- c) Legal material
- h) Public Law
- Preventive Health Amendments of 1993, Publ. No. 103-183,107
Stat, 2226 [Dec. 14, 1993].
- i) Device not decreed
- Medical Records Confidentiality Act of 1995, S. 1360, 104th Cong.
1st Sess [1995].
- j) Code of Federal Regulations
- Informed Consent, 42 C.F.R. Sect. 441. 257 [1995].
- k) Unpublished material
- In press or "in advance":
Leshner AI. Molecular mechanisms of cocaine addiction. N Eng J
Med. In press 1997
- l) Electronic material
- Article of a magazine in electronic format:
Morse SS. Factors in the emergence of infections diseases. Emerg In-
fect Dis [serial on line] 1995 Jan-Mar [cited 1996Jun 5], 1 [1]: [24
screens]. Available from: VRL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>.
 - Monograph in electronic format:
CDI, clinical dermatology illustrated [monograph on CD-ROM].
Reeves JRT, Malbach H, CMEA Multimedia Group, producers. 2nd
ed. Version 20. San Diego: CMEA; nineteen ninety five.
 - Computerized file:
Hemodynamics 111: the ups and downs of hemodynamics [com-
puter program]. Version 2.2 Orlando (FL): Computerized Educati-
onal Systems; 1993.

7. Tables

All tables should be grouped after the legends of the figures, each
on a separate page. They should be sequentially numbered with Ro-
man numerals, contain a title and clarifications at the bottom of the

table, if necessary. At the bottom of each table should be the clarification of the abbreviations used, as well as all the information related to the form of expression of the results and the statistical treatment that the authors consider necessary. Tables must be understandable by themselves. For the elaboration of the tables, it is recommended to use the Word word processor and select the Table Style "Basic Table 1".

8. Figures

All figures should be grouped after the tables, each on a separate page. They must be numbered sequentially with Arabic numerals. Photographs and figures may have colors, although in the case of figures the background must be white. The title of the figures should not be included with them but in the section "Legends of Figures". This legend should include the title of the figure, the clarification of the abbreviations used and all the information related to the form of expression of the results and the statistical treatment that the authors consider necessary. In the case of figures, photographs or tables taken from another publication, the source must be cited and the written permission granted by the intellectual owner of said material must also be sent so that it can be published in ByPC.

9. Reviews, letters to the editor, guide reports and consensus

Reviews, letters to the editor, guide reports and consensus will usually be requested by the Editorial Committee of the Journal from authors considered experts in the field, discipline or specialty in question. However, they will be considered for your. Reviews, letters to the editor, guide reports and consensus will usually be requested by the Editorial Committee of the Journal from authors considered experts in the field, discipline or specialty in question. However, those that were sent spontaneously will be considered for publication. They must follow the guidelines set forth for the publication of original articles, with the difference that their text will not need to have results and discussion. In the particular case of the reviews, they must contain a minimum of 20 complete and updated bibliographic references for the purposes of the topic covered.

10. Spelling and forms of expression

- The use of words in other languages should be avoided and, when this is essential, they should be placed in italics (eg *in vitro*).
- The "p" statistic must be written in lowercase.
- In the expression of the results, space must be left between the figures and the symbols or units (eg: $p < 0.05$; $32 \pm 2 \text{ g/l}$).
- Units: the units most frequently used in our environment must be used for each analyte (eg glucose, urea, uric acid, lipids, lipoproteins, apoproteins in mg / dl).
- Abbreviations must be clarified the first time they appear in the text, placing them in parentheses, despite the fact that they are widely known abbreviations (eg hemoglobin (Hb)). In turn, they should always be followed by a point.
- In the expression of the results, both the mean and the median must contain the same number of decimals as their respective standard deviations, errors, percentiles, or ranges (eg 9.25 ± 0.78).
- In the expression of the results, the separation between the integer and the decimals must be done with commas and not with dots, which is typical of the English language (3.25), except for the English summary (Abstract) which points should be used (3.25).
- In the text, when a number appears at the beginning of the sentence, it must be written in letters (Ex. Twenty patients ..).



Please, answer the following questions YES or NO and make all the comments that justify your answer.

If you consider it necessary, you can add other items not included in the form. Your comments will be forwarded to the author without identifying the source and your suggestions will be of great help to him / her and to the editors of the Journal.

Guidance form for manuscript evaluation

SECTION	YES/NO	COMMENTS
Title		
Does it contain the object of study and mention the main variables studied?		
Do you use little-known abbreviations, acronyms, symbols, or formulas?		
Is it a brief and accurate representation of the content of the article?		
Introduction		
Are the background of the study topic well summarized and relevant to it?		
Is the main objective clearly defined?		
Materials and methods		
Is the population and / or sample studied clearly defined?		
Is the methodological design clearly mentioned?		
Are the applied methods developed clearly and in sufficient detail?		
Is the statistical treatment appropriate?		
Results		
Is the data well presented?		
Are the tables, figures and charts understandable?		
Are there tables, charts, or figures that need to be changed, removed, or added?		
Is there duplication of information between text, tables, figures and / or graphics?		
Discussion		
Are the results adequately discussed?		
Are they confronted with updated references from other relevant authors?		
Are there errors in calculation, interpretation or omission?		
Conclusions		
Are the conclusions supported by the data obtained?		
Are they correct and consistent with the objective set for this study?		
Bibliographic references		
Are all bibliographic references cited in the work fully mentioned?		
Are they reported in the format established for the magazine?		

ChatGPT en la investigación científica

Recientemente, instalé la aplicación ChatGPT en mi computadora personal.

—¿Qué es ChatGPT? —le pregunté.

—ChatGPT es un modelo de lenguaje natural basado en la arquitectura GPT (Generative Pre-trained Transformer) de OpenAI. Fue entrenado en un gran conjunto de datos de texto para aprender a generar respuestas coherentes a partir de las entradas de los usuarios —me contestó.

—¿Y para qué se puede usar?

—ChatGPT se puede utilizar para una variedad de tareas de procesamiento de lenguaje natural como la generación de texto, la traducción automática, la respuesta a preguntas y el análisis de sentimientos. Es capaz de comprender y generar texto en varios idiomas, incluyendo inglés y español.

Comencé formulando preguntas simples y obtuve respuestas satisfactorias. Como me resultaba entretenido, empecé a hacer preguntas más elaboradas.

En paralelo, estaba desarrollando un *script* [secuencia de comandos] de base de datos y, como estaba trabado en uno de ellos, decidí plantearle el problema a ChatGPT de manera coloquial, sin tecnicismos, tal como si se lo explicara a una persona sin conocimientos de informática. Sorpresivamente, y de acuerdo con la respuesta obtenida, me di cuenta que la máquina era una experta en el tema en cuestión. Entonces, me animé a más y le pedí directamente la programación del *script*, lo cual hizo en un santiamén. Seguidamente, pude comprobar que funcionaba a la perfección. Es decir, tenía ahora la funcionalidad que yo necesitaba para mi base de datos como si hubiera sido elaborada por un experto programador.

Tanto fue mi asombro que seguí preguntando e indagando sobre multiplicidad de temas, hasta que formulé una pregunta que, para nosotros, los miembros del Comité Editorial de ByPC, es de máxima relevancia.

Pregunté lo siguiente o, mejor dicho, la conversación que mantuve fue más o menos así:

—Estoy escribiendo un trabajo sobre un caso de un paciente con la anomalía leucocitaria. ¿Puedes ayudarme?

Inmediatamente, apareció en mi pantalla un resumen impecable sobre esta rara anomalía.

—Cuáles son las alteraciones genéticas reportadas que podrían originar esta anomalía?

De nuevo, obtuve un listado detallado de cada una de ellas.

—¿Podrías darme las citas bibliográficas de cada una de las mutaciones que me estás mostrando?

Y obtuve las referencias en el formato esperado, sin inconvenientes.

A partir de esta sucesión de hechos sorprendentes para

mí, me di cuenta de algo fundamental:

—*Acá hay una ruptura* —me dije a mí mismo. *Esta es, probablemente, la invención más significativa de los últimos años, y tiene consecuencias tremendas para nuestra manera de concebir la investigación científica* — medité.

Podríamos seguir y seguir preguntando y pidiendo reformulaciones de las respuestas hasta obtener un artículo científico impecable y luego firmarlo como si hubiésemos sido nosotros quienes lo escribimos, simplemente, estableciendo un diálogo inteligente con la computadora.

En palabras del propio ChatGPT:

“ChatGPT puede ser útil en la producción de trabajos científicos. A continuación, te mencionaré algunas formas en las que el ChatGPT puede ser utilizado en este ámbito:

- Ayuda en la escritura: El ChatGPT puede ser utilizado como una herramienta de ayuda en la escritura de trabajos científicos, proporcionando sugerencias de vocabulario, estructura y gramática.

- Resumen de artículos científicos: El ChatGPT puede ser utilizado para resumir artículos científicos y proporcionar una visión general de los hallazgos y conclusiones. Los resúmenes generados por el ChatGPT pueden ahorrar tiempo a los investigadores al proporcionar una visión general rápida de los artículos y permitirles identificar rápidamente aquellos que son relevantes para su trabajo.

- Generación automática de informes: El ChatGPT también puede ser utilizado para generar informes científicos de forma automática, especialmente para tareas rutinarias y repetitivas”.

—¿Está bien valerse de ChatGPT para la escritura de trabajos científicos sin mencionar que se usó? —pregunté entonces.

—En la mayoría de los casos, si el ChatGPT se utiliza como una herramienta de ayuda para la escritura y la generación de textos científicos, se espera que los textos generados sean atribuidos al autor o autores del trabajo y no al ChatGPT. En otras palabras, el ChatGPT es simplemente una herramienta que proporciona sugerencias y ayuda para la escritura, pero el autor del trabajo es quien toma las decisiones finales sobre el contenido y la estructura del texto. Sin embargo, en algunos casos en los que el ChatGPT ha sido utilizado de forma más sustancial en la generación del contenido, puede ser necesario mencionar su intervención en el trabajo. Por ejemplo, si se ha utilizado el ChatGPT para generar un informe científico de forma automática, podría ser necesario mencionar su intervención en la sección “Métodos” o “Resultados” [-¡No! ¡En “Resultados”, por favor, no!] del trabajo. En cualquier

caso, es importante ser transparente sobre la utilización de cualquier herramienta de generación de texto, incluyendo el ChatGPT, en la producción de trabajos científicos y respetar los estándares éticos y de atribución correspondientes.

Ante semejante discurso, se me ocurrió preguntar sobre la posibilidad de generar gráficos, tablas y figuras:

- *El ChatGPT puede generar texto, pero no es una herramienta adecuada para generar gráficos, tablas o figuras, ya que este tipo de elementos requieren habilidades específicas de diseño y procesamiento de datos que no están incluidas en la capacidad del ChatGPT. Sin embargo, existen otras herramientas y software especializados que se pueden utilizar para generar gráficos y tablas a partir de datos, como Microsoft Excel, R o Python. Estos programas pueden procesar y visualizar los datos de manera efectiva, y se pueden integrar con el trabajo escrito generado por el ChatGPT.*
- *Pero entonces, ChatGPT podría escribir un artículo científico?*
- *El ChatGPT puede proporcionar sugerencias de redacción y ayudar en la organización y estructuración de los resultados obtenidos en un trabajo de investigación, pero no puede generar conclusiones por sí mismo. Las conclusiones de un trabajo de investigación deben ser el resultado de una interpretación crítica de los resultados y deben ser elaboradas por el autor del trabajo. Es importante que las conclusiones estén respaldadas por los datos y sean coherentes con los objetivos y las preguntas de investigación planteadas al comienzo del estudio — [Esto me suena de algún lado]. — Por lo tanto, aunque el ChatGPT puede ser una herramienta útil para ayudar en la redacción de un trabajo científico, no puede reemplazar el juicio crítico y la interpretación de los resultados que solo puede ser proporcionada por un investigador humano.*

A esta altura, la respuesta me pareció políticamente correcta, aunque dudé de su veracidad. ¿Será que no podrá?

- *¿Puedes contrastar los resultados de mi investigación con otros publicados en la web?*
- *El ChatGPT no tiene la capacidad de comparar los resultados de su investigación con los resultados de otras investigaciones publicadas en la web. Para comparar los resultados de su investigación con los resultados de otras investigaciones, es necesario realizar una revisión de la literatura y buscar estudios relevantes en la bibliografía científica.*
- *¿Y en el futuro, existirá esa posibilidad?*
- *Es posible que en el futuro se desarrollen herramientas de inteligencia artificial más avanzadas que puedan comparar los resultados de una investigación con los resultados*

de otras investigaciones publicadas en la web. Sin embargo, es importante tener en cuenta que el uso de dichas herramientas debe ser guiado por consideraciones éticas y debe respetar los derechos de autor y los derechos de propiedad intelectual de los autores de los estudios.

Evidentemente, aquí hay un fuerte asesoramiento ético-jurídico y, lejos de tratarse de una limitación propia del sistema, hay un límite que se le fija a esta tecnología.

- *Por lo tanto, aunque es posible que en el futuro se desarrollen herramientas más avanzadas que puedan comparar los resultados de una investigación con los resultados de otras investigaciones publicadas en la web, es importante tener en cuenta que la interpretación de los resultados y la evaluación crítica de la literatura siempre requerirán la intervención humana y el juicio crítico de los investigadores.*

A esta altura, mi cabeza estaba inmersa en la trifulca de poder discernir sobre si el hecho de utilizar ChatGPT como colaborador en mi investigación científica estaba bien o mal y concluí que se trata de un cambio al que deberemos adaptarnos tanto los autores como los miembros de los comités editoriales entendiéndolo como parte del juego y considerando que es una nueva herramienta que tenemos a nuestra disposición.

Asumiendo que esto es un hecho, deberemos centrar nuestra atención solo en lo que verdaderamente importa, en mi ejemplo, el hallazgo del caso y la posibilidad de que se trate de una mutación aún no descrita. Todo lo demás, como queda demostrado en este texto escrito en coautoría con ChatGPT, podría haber sido generado por una computadora.

De alguna manera, el investigador verá revalorizado su rol porque, en definitiva, es quien lleva adelante este juego dialéctico en donde parecería que ChatGPT es un perro fiel.

Tal vez, pronto estos roles también se inviertan.

Julián Verona (y ChatGPT)
 Miembro del Comité Editorial de RByPC
 Miembro de la IFCC TF-E

ARTÍCULO ORIGINAL

Evaluación de dos métodos de formato no competitivo para el dosaje de anticuerpos antirreceptor de TSH

Evaluation of Two Non-Competitive Methods for the Measurement of Anti-TSH Receptor Antibodies.

Calvo, Mariela^{*1}; Astarita, Graciela¹; Otero, Patricia¹.

¹Laboratorio de Endocrinología, Hospital Carlos G. Durand. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

*Contacto: Calvo, Mariela. Laboratorio de Endocrinología, Hospital Carlos G. Durand. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. Av. Díaz Vélez 5044; marielacalvo82@gmail.com

Resumen

Introducción: En los últimos años se desarrollaron diferentes inmunoensayos no competitivos, de tipo puente, para el dosaje de anticuerpos antirreceptor de TSH (TRAb), el principal autoantígeno de la enfermedad de Graves (EG). **Objetivos:** 1) Comparar dos ensayos de formato no competitivo para la medición de TRAb; 2) Establecer la concordancia diagnóstica de los ensayos; 3) Determinar la validez diagnóstica de ambos métodos. **Materiales y Métodos:** Se realizó un estudio retrospectivo, observacional y transversal. Se midieron TRAb por Maglumi[®], Snibe y TSI Immulite[®], Siemens. Se determinó el coeficiente de correlación de Pearson (r), la gráfica de Bland - Altman, la regresión de Passing - Bablok, el coeficiente kappa (k) y el análisis de curvas ROC para la validez diagnóstica. **Resultados:** El r fue de 0,93 (p = <0,0001); la gráfica de Bland - Altman mostró una diferencia de las medias de 0,69. La regresión de Passing - Bablok evidencia diferencias constantes y proporcionales entre ambos métodos. El kappa fue 0,59; la sensibilidad para TSI; 84,6 % y para Maglumi: 57 %. **Discusión:** Los métodos muestran muy buena correlación con una concordancia diagnóstica aceptable, buena sensibilidad y especificidad para el diagnóstico y seguimiento de la EG. Sin embargo, no son intercambiables, por eso, el seguimiento debe realizarse con una misma metodología. TSI detectó mayor porcentaje de muestras positivas. Encontramos bajas concentraciones de TSI en pacientes con EG en vías de remisión. Esto plantearía la necesidad de investigar a futuro un posible valor de corte con utilidad pronóstica de remisión presuspensión de antitiroideos en esta población.

Palabras clave: enfermedad de Graves, TRAb, TSI, anticuerpos antirreceptores de TSH.

Abstract

Introduction: In recent years, different non-competitive immunoassays have been developed for the measurement of anti-TSH receptor antibodies (TRAbs), the main autoantigen of Graves' Disease (GD). The aim of this study was to evaluate the analytical and clinical performance of two non-competitive methods for TRAbs measurement, in patients with and without GD. **Materials and Methods:** Serum samples were evaluated in a retrospective, observational, cross-sectional study. TRAbs were measured using Maglumi (Snibe) and TSI Immulite (Siemens). Pearson's correlation coefficient, Bland-Altman plot analysis, Passing-Bablok regression, and kappa coefficient were determined. ROC curve analysis was determined for diagnostic validity. **Results:** The Pearson linear correlation coefficient was 0.93 (p = <0.0001). The Bland-Altman plot demonstrated a mean difference of 0.69. The Passing-Bablok regression proved the presence of constant and proportional differences between methods. The kappa was 0.59. The sensitivity of TSI Immulite was 84.6%, whereas that of Maglumi was 57%. **Discussion:** The methods demonstrated excellent correlation and acceptable diagnostic concordance with good sensitivity and specificity for the diagnosis and monitoring of GD. However, the methods are not interchangeable. Monitoring should be done using the same methodology. TSI Immulite detected a higher percentage of positive samples than Maglumi. Low concentration of thyroid-stimulating immunoglobulin was found in patients with GD in remission. It would be necessary to research a prognostic cut-off value for remission before suspension of antithyroid drugs in this population.

Key words: Graves' Disease, TRAb, TSI, TSH receptor antibodies.

Introducción

La enfermedad de Graves - Basedow (EG) es la causa más común de hipertiroidismo, con una prevalencia de 60 a 80 % en pacientes hipertiroideos. El pico de incidencia de la enfermedad se encuentra entre la cuarta y sexta década de la vida y es más predominante en mujeres que en hombres¹.

El receptor de TSH (rTSH) es el principal autoantígeno en la EG. Los anticuerpos estimulantes de rTSH son los marcadores patogénicos y diagnósticos de la EG; actúan emulando la acción de la TSH, estimulando a su receptor e induciendo la síntesis de hormonas tiroideas.

Los TRAb son funcionalmente heterogéneos. Se ha demostrado que en una misma muestra pueden coexistir anticuerpos con actividad bloqueante y estimulante sobre el rTSH². La presencia de diferentes proporciones de estos anticuerpos en un mismo paciente, sumada a la diferente actividad biológica frente al rTSH, explicaría la variabilidad de manifestaciones clínicas y también, los casos reportados de virajes inmunológicos de hipertiroidismo a hipotiroidismo o viceversa.

El dosaje de TRAb es fundamental para determinar la etiología autoinmune del hipertiroidismo durante el seguimiento de EG, en la predicción de remisión o recidivas una vez discontinuada la terapia y en la evaluación del riesgo de desarrollar hipertiroidismo³.

Existen diferentes métodos analíticos para la determinación de la concentración de TRAb, que han ido evolucionando con el tiempo⁴. Dependiendo del tipo de ligando utilizado (por ej.: TSH marcada con I¹²⁵, un anticuerpo monoclonal anti-rTSH, etc.), de la naturaleza del rTSH y otras características del diseño, se los clasifica en ensayos de primera, de segunda y de tercera generación.

Los ensayos de primera y segunda generación son competitivos y se basan en la inhibición de la unión de TSH marcada al rTSH.

En los últimos años, han salido al mercado inmunoensayos no competitivos de tercera generación que utilizan dos receptores de TSH en formato de sándwich. La disponibilidad y vigencia de distintas generaciones de ensayos con diferente y diseño contrastados con diferentes estándares internacionales de referencia aporta gran variabilidad entre los métodos.

Actualmente, se encuentran en uso distintos estándares internacionales (MCR LATS /OMS 65/122; NIBSC 90/672 y NIBSC 08/204) para las distintas plataformas y las distintas generaciones de inmunoensayos disponibles. A raíz de esta particularidad, en el 2010, la OMS llevó a cabo un estudio para intentar establecer el uso de un mismo material de referencia y, de esta manera, contribuir a la reducción de la variabilidad entre los distintos métodos⁵.

Los objetivos del presente estudio son: 1) Comparar dos ensayos de formato no competitivo para la medición de TRAb; 2) Establecer la concordancia diagnóstica de los ensayos; 3) Determinar la validez diagnóstica de ambos métodos comparándolos con el *gold standard* para el diagnóstico de la EG, basado en criterios clínicos.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio retrospectivo, observacional y transversal. Se analizaron muestras de suero de pacientes que concurren al Laboratorio de Endocrinología del Hospital General de Agudos C. G. Durand de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires entre 2019 y 2021.

Tabla I. Concordancia diagnóstica e índice kappa para TSI Immulite Siemens y TRAb Maglumi Snibe.

		TSI Immulite Siemens		Total
		<0,55 UI/L	>0,55 UI/L	
TRAb Maglumi Snibe	<1,5 UI/L	41	26	67
	>1,5 UI/L	0	57	57
Total		41	83	124

kappa: 0,59

Tabla II. Validez diagnóstica de los métodos TSI Immulite, Siemens y TRAb Maglumi, Snibe.

	TRAb Maglumi Snibe	TSI Immulite Siemens
N	124	124
Sensibilidad %	57,1	84,6
Especificidad %	96,3	85,1
AUC	0,90 [IC 95% 0,84-0,95]	0,87 [IC 95% 0,79-0,92]

► AUC, área bajo las curvas ROC.

Pacientes y muestras

Las muestras analizadas fueron remitidas al laboratorio para el diagnóstico etiológico de hipertiroidismo o enviadas durante el seguimiento de pacientes con EG en distintos estadios evolutivos de la enfermedad.

El diagnóstico de EG se estableció de acuerdo con parámetros clínicos (signos y síntomas de hipertiroidismo), estudios de imagen (ecografía y centellograma tiroideo) y laboratorio (hipertiroidismo clínico o subclínico con autoinmunidad tiroidea positiva). Estos criterios constituyen el *gold standard* del diagnóstico de la EG.

Los rangos de referencia utilizados para definir el estado funcional tiroideo para toda la población estudiada fueron: TSH: 0,3 - 4,5 UI/L; T4T: 5 - 12,5 ug/dL; T4L: 0,8 - 1,8 ng/dl; T3T: 70-200 ng/dl, determinados por quimioluminiscencia en el analizador Immulite® 2000 (Siemens Healthineers).

Las muestras de sangre se extrajeron por la mañana, en condiciones de ayuno, en tubos con gel separador y se centrifugaron inmediatamente. El suero obtenido se conservó congelado a

-20°C hasta el momento del análisis.

Para la medición de TRAb se emplearon dos métodos no competitivos, quimioluminiscentes: TSI, Immulite® 2000 (Siemens Healthineers), que de ahora en más llamaremos *TSI* y TRAb Maglumi 800 (Snibe), que de ahora en más llamaremos *TRAb Maglumi*.

TSI consiste en un inmunoanálisis sándwich o puente, quimioluminiscente que usa como receptor de captura y señal un par de estructuras quiméricas del rTSH recombinante humano. El límite de cuantificación aportado por el fabricante es de 0,1 UI/L y el valor de corte del ensayo es de 0,55 UI/L.

El método de TRAb Maglumi es un inmunoanálisis quimioluminiscente no enzimático que usa como receptor de captura rTSH recombinante humano. El segundo receptor de señal es rTSH acoplado a aminobutil-etil-isoluminol. El límite de cuantificación aportado por el fabricante es de 0,3 UI/L y el valor de corte = 1,5 UI/L.

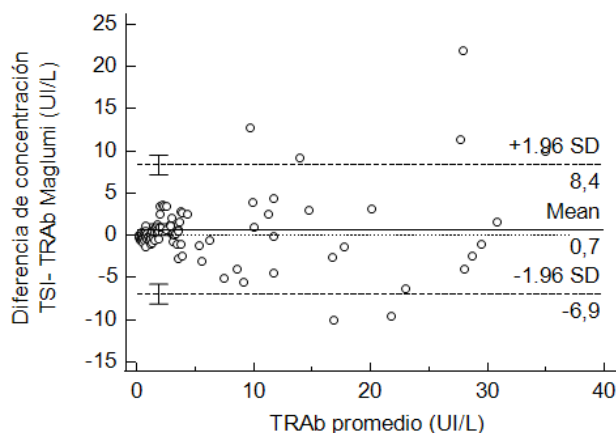
Ambos métodos están calibrados con el estándar internacional de referencia 08/204 del NIBSC (*National Institute for Biological Standards and Control*).

Tabla III. Resultados de cada método, según diagnóstico y estadio evolutivo de EG.

Grupos	N	TRAb Maglumi / TSI Immulite			Observaciones	
		-/-	-/+	+/+		
1	EG de reciente inicio, sin tratamiento con MMI	18	-	1*	17	*Con Trab Maglumi: 1,2 UI/L, (valor de corte: 1,5 UI/L)
2a	EG en tratamiento con MMI por menos de 6 meses	13	1*	3	9	*EG con TRAb no dosable. Diagnóstico por centellograma, con captación difusa e hipertiroidismo con TSH <0,01 UI/L. Casos similares se encuentran descritos en la literatura ⁶ .
2b	EG en tratamiento con MMI por más de 6 meses	43	-	17	26	-
2c	EG en vías de remisión clínica y pacientes bioquímicamente eutiroideos, ya sin tratamiento farmacológico o con dosis bajas de mantenimiento	19	13	5*	1**	* Con TSI entre 0.6 y 0.99 UI/L **Sospecha de TRAb con actividad bloqueante ^{7,8} .
3	Pacientes EG con evidencia de viraje de hipertiroidismo EG a hipotiroidismo autoinmune o viceversa.	4	-	-	4	-
4	Hipertiroidismo no EG	9	9	0	0	-
5	Pacientes sin enfermedad tiroidea.	18	18	0	0	-
total		124	41	26	57	-

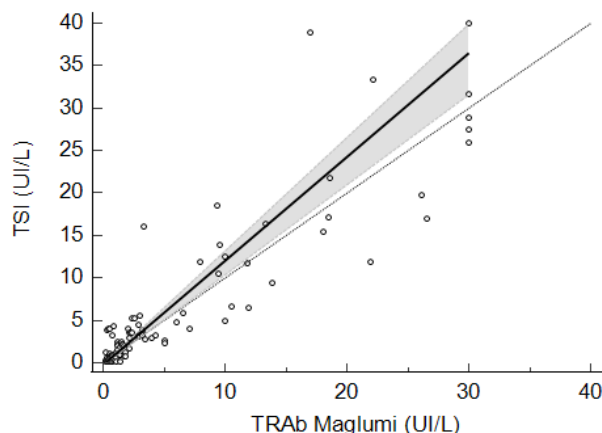
► N, número de muestras por grupo; [-/-], número de muestras negativas por ambos métodos; [-/+], número de muestras negativas por TRAb Maglumi y positivas por TSI Immulite; [+/+], número de muestras positivas por ambos métodos; EG, enfermedad de Graves; MMI, metimazol.

Figura 1. Gráfica de Bland - Altman entre los métodos TSI Immulite Siemens y TRAb Maglumi Snibe.



► TSI, TSI Immulite Siemens; TRAb Maglumi, TRAb Maglumi Snibe; TRAb promedio, $(\text{TRAb Maglumi} + \text{TSI Immulite})/2$ para cada muestra analizada; SD, desvío standard; Mean, media de las diferencias de concentración de TSI Immulite - TRAb Maglumi.

Figura 2. Gráfica de Passing - Bablok : TSI Immulite vs. TRAb Maglumi.



► TSI, concentración de anticuerpos TRAb determinados por TSI Immulite Siemens; TRAb Maglumi, concentración de anticuerpos TRAb determinados por TRAb Maglumi Snibe.

Análisis estadístico

Para la comparación entre los métodos, se determinó el coeficiente de correlación de Pearson, la gráfica de Bland - Altman y la regresión de Passing - Bablok.

Para evaluar la concordancia diagnóstica, se evaluó el grado de acuerdo mediante el coeficiente kappa [k], previa transformación de las variables a cualitativas dicotómicas, utilizando los valores de corte de cada fabricante: 1,5 UI/L para TRAb Maglumi y 0,55 UI/L para TSI. Se consideró un grado de acuerdo aceptable con $k = 0,41$ a $0,6$, según escala de Landis y Koch.

Para el análisis de la validez diagnóstica de los métodos, se calcularon la sensibilidad (S) y especificidad (E) y las áreas bajo las curvas ROC para el total de la población de muestras incluidas en el estudio, comparándolas con el *gold standard* diagnóstico.

A fin de analizar el comportamiento de cada test en diferentes estadios evolutivos de la EG, se clasificó a la población en distintos grupos según el diagnóstico y, para aquellos pacientes con EG, se hizo lo propio de acuerdo con el tiempo de instauración del tratamiento farmacológico con metimazol (MMI). De esta manera, quedaron conformados los siguientes grupos:

- Grupo 1: pacientes con EG de reciente inicio, sin tratamiento con MMI;
- Grupo 2a: pacientes con EG en tratamiento con MMI por menos de 6 meses;
- Grupo 2b: pacientes con EG en tratamiento con MMI por más de 6 meses;
- Grupo 2c: pacientes con EG clínica y bioquímicamente eutiroides ya sin tratamiento farmacológico o con dosis bajas de mantenimiento (en vías de remisión);
- Grupo 3: pacientes con evidencia de viraje inmunológico,

de hipertiroidismo a hipotiroidismo o viceversa;

- Grupo 4: pacientes con hipertiroidismo no EG;
 - Grupo 5: pacientes sin enfermedad tiroidea [Tabla III].
- Se utilizó el programa *MedCalc* para el análisis estadístico de los datos.

Resultados

La población estudiada presenta un rango de edad de 12 a 63 años (2% < 18 años, 98 % > 18 años).

Del total de muestras analizadas, un 78 % presentó diagnóstico de EG; un 7 %, de hipertiroidismo de origen no autoinmune y un 15 % estaba libre de patología tiroidea. El coeficiente de correlación lineal, según Pearson, fue de 0,93 ($p = < 0,0001$). En la Figura 1, se muestra la gráfica de Bland-Altman, que evidencia una diferencia de las medias de 0,6 al comparar TSI con TRAb Maglumi. Según los resultados obtenidos, el intervalo de confianza del 95 % para las medias de las diferencias incluye el valor 0 [-0,002 a 1,386].

La regresión de Passing-Bablok presenta la ecuación $y = -0,202 + 1,207 x$ (Figura 2). El IC del 95 % de la ordenada al origen excluye el 0 [-0,233 a -0,164], lo cual indica que existirían diferencias sistemáticas constantes entre los métodos, mientras que el IC del 95 % de la pendiente excluye el 1 [1,05 a 1,33] por lo que también existirían diferencias sistemáticas proporcionales entre ambos métodos en todo el rango de medición analizado.

En la Tabla I, se muestran los resultados de la concordancia diagnóstica, previa dicotomización de las variables según los valores de corte propuestos por el fabricante. El coeficiente kappa fue de 0,59, considerado como un grado de acuerdo aceptable.

El 79 % (98 de 124) de las muestras analizadas fueron concordantes para ambas metodologías, mientras que el

21 % restante (26 de 124) presentó valores discordantes, con TSI positivo y TRAb Maglumi negativo en todos los casos. El 100 % de los pacientes sin EG ($n = 27$) resultó negativo por ambos métodos.

En las figuras 1 y 2, se observa un porcentaje importante de muestras con una concentración de TRAb menor que 5 UI/L. Dado que estas representan un 74 % del total de muestras analizadas, se realizó un análisis discriminado de esta subpoblación de datos. El coeficiente de correlación lineal, según Pearson, fue de 0,71 ($p < 0,0001$) y el coeficiente kappa fue de 0,44, considerado un grado de acuerdo aceptable.

Los resultados del análisis de la validez diagnóstica para la EG, se muestran en la Tabla II. TSI demostró una mayor sensibilidad y especificidad conjunta para el valor de corte 0,5 UI/L, coincidente con el propuesto por el fabricante. El método TRAb Maglumi demostró una $S = 57,1$ % y $E = 96,3$ % para el valor de corte de 1,5 UI/L, mientras que el mejor punto de corte para este método fue de 0,7 UI/L con $S = 76,5$ % y $E = 88,9$ %. Las áreas bajo la curva fueron de 0,87 [IC95% 0,79-0,92] para TSI y de 0,91 [IC95% 0,84-0,95] para TRAb Maglumi.

En la Tabla III, se describe el número de resultados concordantes y discordantes para cada uno de los grupos, así como ciertas observaciones consideradas de relevancia.

Discusión

El objetivo de este trabajo se basó en la comparación de dos métodos no competitivos para la medición de TRAb. Se evaluó la concordancia diagnóstica entre ambos y se analizó la validez diagnóstica de cada método en pacientes con y sin EG.

El número de mujeres con EG ($n = 80$; 83 %) fue mayor que el de hombres ($n = 17$; 17 %), hallazgo similar a lo publicado en la literatura especializada, que refiere una razón mujer/hombre de entre 4/1 y 10/1.

Según los resultados obtenidos, la correlación entre los métodos fue elevada al analizar el total de muestras incluidas. Esto era esperable dado que los métodos evaluados tienen un diseño similar y están estandarizados con el mismo estándar de referencia internacional [NIBSC 08/204].

Por otra parte, es interesante resaltar la menor correlación hallada en valores < 5 UI/L de TRAb. Una posible explicación es que el método de TSI podría presentar una mayor capacidad para detectar TRAb estimulante que TRAb Maglumi, a raíz del constructo de rTSH quimérico presente en su diseño.

Del análisis de las gráficas de Bland-Altman y Passing-Bablok, se puede concluir que los métodos no son intercambiables y, por lo tanto, es prudente aconsejar realizar el seguimiento del paciente siempre por una misma metodología.

La concordancia entre TRAb Maglumi y TSI mostró un coeficiente kappa aceptable tanto para el total de muestras analizadas como para el subgrupo de concentraciones < 5 UI/L.

En cuanto a la validez diagnóstica, la sensibilidad de TSI fue mejor que la de TRAb Maglumi, mientras que la especificidad fue mejor en TRAb Maglumi que en TSI.

Si bien el área bajo la curva ROC en TRAb Maglumi es ligeramente mayor que el área bajo la curva ROC en TSI, no existe diferencia significativa al comparar estadísticamente ambas áreas bajo la curva ROC, según el método DeLong ($p = 0,32$), por lo que estamos en condiciones de afirmar que ambos métodos poseen una adecuada y similar capacidad diagnóstica para EG.

Hu Y y col⁹, sobre una población de 559 muestras, han reportado una sensibilidad de 93,7 % y una especificidad del 85,1 %, con un punto de corte de 0,7 UI/L para el método TSI. En otro trabajo comparativo sobre 194 muestras, en el cual se evaluaron tres métodos de medición de TRAb, dos de los cuales eran TSI y Maglumi, se vio que TSI tenía una sensibilidad de 81 %, superior a la hallada para TRAb Maglumi, de 58 %¹⁰. Estos datos reportados son similares a los hallados en nuestro trabajo.

Dado el esperable descenso de la concentración de TRAb durante el tratamiento con MMI¹¹, del análisis del comportamiento de los métodos en los diferentes grupos, se enfatizan dos hallazgos: por un lado, la discordancia observada entre los métodos a lo largo del tratamiento con MMI estaría dada a expensas de la mayor sensibilidad del TSI frente al método TRAb Maglumi, haciendo hincapié en que las muestras discordantes del grupo 2a presentaron TRAb Maglumi dosable al momento del diagnóstico; por otro lado la presencia de TSI aún dosable en el grupo de pacientes en vías de remisión (grupo 3). En este sentido, planteamos que sería interesante realizar a futuro un estudio prospectivo con un mayor número de muestras para evaluar si la negativización del TSI es un parámetro necesario para considerar remisión o si habría que establecer un valor de corte de TSI predictivo de este estado.

En conclusión, los métodos analizados demostraron una muy buena correlación, con una concordancia diagnóstica aceptable con ausencia de intercambiabilidad, por lo que, a pesar de demostrar un buen rendimiento diagnóstico para la EG, se sugiere que el seguimiento de pacientes, una vez diagnosticados, se realice con una misma metodología.

Es factible encontrar TSI aún dosable, aunque en bajas concentraciones, en pacientes con EG en vías de remisión. Esto plantearía la necesidad de investigar a futuro un posible valor de corte para TSI en esta población, con utilidad pronóstica de remisión presuspensión de antitiroideos.

Agradecimientos

Agradecemos a la Téc. María del Carmen Rosciano por su apoyo técnico.

Conflicto de intereses

Los autores del estudio declaran no poseer conflicto de interés alguno.

Referencias bibliográficas

1. Cooper GS, Stroehla BC. The Epidemiology of Autoimmune Diseases. *Autoimmun Rev.* 2003; 2: 119-125.
2. Morshed SA, Davies TF. Graves' Disease Mechanisms: The Role of Stimulating, Blocking, and Cleavage Region TSH Receptor Antibodies. *Horm Metab Res.* 2015; 47(10):727-34.
3. Evans M, Sanders J, Tagami T, Sanders P, Young S, Roberts E, et al. Monoclonal autoantibodies to the TSH receptor, one with stimulating activity and one with blocking activity, obtained from the same blood sample. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2010; 73(3):404-12.
4. Tozzoli R, D'Aurizio F, Villalta D, Giovannella L. Evaluation of the first fully automated immunoassay method for the measurement of stimulating TSH receptor autoantibodies in Graves' disease. *Clin Chem Lab Med.* 2017;55(1):58-64.
5. Burns C, Tiplady R, Rigsby P. WHO international collaborative study of the proposed 2nd international standard for thyroid stimulating antibody. Biologicals Unit & WHO Expert Committee on Biological Standardization. World Health Organization; 2010. [Internet]. Disponible en: WHO/BS/10.2142. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/70583>
6. Hamasaki H, Yoshimi T, Yanai H. A patient with Graves' disease showing only psychiatric symptoms and negativity for both TSH receptor autoantibody and thyroid stimulating antibody. *Thyroid Res.* 2012 ;5(1):19.
7. Diana T, Wüster C, Olivo PD, Unterrainer A, König J, Kanitz M, et al. Performance and Specificity of 6 Immunoassays for TSH Receptor Antibodies: A Multicenter Study. *Eur Thyroid J.* 2017; 6(5):243-249.
8. Furmaniak J, Sanders J, Rees Smith B. Blocking type TSH receptor antibodies. *Autoimmunity highlights.* 2012; 4(1), 11–26.
9. Hu Y, Ni J, Cen Y, Zhang B, Wu W, Cheng W, et al. Evaluation of analytic and clinical performance of two immunoassays for detecting thyroid-stimulating receptor antibody in the diagnosis of Graves' disease. *J Clin Lab Anal.* 2021; 35(12):e23950.
10. Silvestre R, Lafuente A, Jiménez-Mendíguchía L, García-Cano A, López, R, García-Izquierdo B, et al. Comparación de tres métodos para la medida de la concentración de anticuerpos anti-receptor de tirotrópina (TRAb) en el diagnóstico de la enfermedad de Graves. *Validación clínica. Adv Lab Med* 2020;2(2): 229-235
11. McLachlan SM, Rapoport B. Thyrotropin-blocking autoantibodies and thyroid-stimulating autoantibodies: potential mechanisms involved in the pendulum swinging from hypothyroidism to hyperthyroidism or vice versa. *Thyroid.* 2013;23(1):14-24.

ARTÍCULO ORIGINAL

Caracterización fenotípica y molecular de enterobacterias productoras de carbapenemasas en la ciudad de Mar del Plata

Phenotypic and molecular characterization of carbapenemase-producing enterobacteriaceae in the city of Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina

Giletto, Giuliana^{1*}; García, Martina³; Chianalino, Daniela³; Keller, Lorena²; Morvay, Laura¹; Tomassini, Lorian¹; Cortazar, María Mercedes¹; Cañas, Marisol³; Damiano, Rocío³; Moran, Natalia⁴; Elorza, María Victoria²; Giustina, Silvina²; Fares Taie, Hernan²; Faccone, Diego⁵; Guerriero, Leonor²; Quintana, Silvina^{2,6}

¹Servicio de Laboratorio, Hospital Interzonal Especializado Materno Infantil (HIEMI) Don Victorio Tetamanti. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

²Fares Taie Biotecnología. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

³Servicio de Laboratorio, Hospital Interzonal General de Agudos (HIGA) Dr. Oscar Alende. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

⁴Servicio de Laboratorio del INAREPS. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina;

⁵Servicio de Antimicrobianos, INEI ANLIS "Dr. C. Malbran". Buenos Aires, Argentina.

⁶Instituto de Investigaciones en Producción Sanidad y Ambiente (IIPROSAM), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Comisión de Investigaciones Científicas de la provincia de Buenos Aires (CIC), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina

*Contacto: Giletto, Giuliana. Sector Bacteriología, Laboratorio del HIEMI V. Tetamanti. Castelli 2450. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina; giuliana.giletto@gmail.com

Resumen

Introducción: Los carbapenémicos constituyen uno de los grupos de antibióticos utilizados como último recurso en el tratamiento de infecciones causadas por enterobacterias multiresistentes aisladas en muestras clínicas. La resistencia a los mismos es causada, en mayor medida, por enzimas que hidrolizan este grupo de antibióticos entre las que se destacan las carbapenemasas de clase A (como KPC), las de clase B (metalobetalactamasas como NDM, IMP y VIM) y las de clase D (oxacilinasas como la OXA-48 y sus variantes). **Objetivos:** El presente trabajo describe las características epidemiológicas, fenotípicas y moleculares de enterobacterias productoras de carbapenemasas (CPE) aisladas en distintos centros de salud de la ciudad de Mar del Plata. **Resultados:** El 45 % [47/103] de los aislamientos fue productor de KPC; el 44 % [45/103], de OXA-163; el 8 % [8/103], de NDM y un 3 % fueron enterobacterias dobles productoras de carbapenemasas (1 KPC + NDM y 2 OXA-163 + NDM). De las 103 cepas, 25 fueron aisladas de muestras de hisopados de vigilancia, mientras que las 78 restantes correspondieron a muestras clínicas de infecciones. *Klebsiella pneumoniae* es el principal agente productor de carbapenemasas, y las enzimas de tipo KPC y OXA-163 son las más prevalentes en la ciudad. **Discusión:** Resulta de gran importancia conocer la epidemiología de las CPE, ya que debido al aumento en el uso indiscriminado de antibióticos, la resistencia antimicrobiana se ha convertido en una amenaza para la salud pública.

Palabras clave: resistencia, antimicrobianos, carbapenemasa, KPC, OXA, NDM.

Abstract

Introduction: Carbapenems constitute one of the groups of antibiotics used in the treatment of infections caused by multiresistant Enterobacteriaceae isolated from clinical samples. Resistance to these antibiotics is caused mainly by enzymes that hydrolyze this group of antibiotics, among which the most studied are class A carbapenemases (such as KPC), class B carbapenemases (metallo beta-lactamases such as NDM, IMP and VIM) and those of class D (oxacillinases such as OXA-48 and its variants). **Objectives:** The present work describes the epidemiological, phenotypic and molecular characteristics of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (CPE) isolated in different health centers in the city of Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina. **Results:** About 45% [47/103] of the isolates were producers of KPC, 44% [45/103] of OXA-163, 8% [8/103] of NDM, and 3% were double carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (1 KPC + NDM and 2 OXA-163 + NDM). Twenty-five of the 103 strains were isolated from surveillance swab samples, while the remaining 78 were from clinical samples of infections. *Klebsiella pneumoniae* was the main carbapenemase-producing agent, with KPC and OXA-163-type enzymes being the most prevalent in the city. **Discussion:** It is of great importance to know the epidemiology of CPE, since due to the increase in the indiscriminate use of antibiotics, antimicrobial resistance has become a threat to public health.

Keywords: resistance, antimicrobials, carbapenemase, KPC, OXA, NDM.

Introducción

La emergencia de enterobacterias resistentes a una amplia variedad de antimicrobianos de importancia clínica es una realidad en nuestro medio; por ello es cada vez mayor la necesidad de detectar estas resistencias precozmente en el laboratorio.¹ La gran aceleración observada en la última década en la diseminación de la resistencia a los antimicrobianos tiene una vinculación directa con el abuso y el mal uso de estos agentes terapéuticos. Se estima que el 50 % de todos los antimicrobianos que se prescriben es innecesario o se usa de manera inadecuada. Las causas de esto son, entre otras, la indicación de antibióticos en infecciones que no lo requieren, la presión que ejercen el paciente o sus familiares por insuficiente comprensión de la utilidad de los antimicrobianos, la falta de pruebas apropiadas de diagnóstico y el uso creciente de antibióticos con fines no terapéuticos en la producción intensiva de animales destinados al consumo humano.²

La familia de los betalactámicos es una de las familias de antimicrobianos más numerosa y más utilizada en la práctica clínica. A lo largo de los años, se han ido incorporando nuevas moléculas con mayor actividad frente a los bacilos gramnegativos, capaces de superar las resistencias adquiridas frente a sus predecesores.³

Los carbapenémicos forman parte de la familia de betalactámicos y constituyen uno de los grupos de antibióticos utilizados como último recurso en el tratamiento de infecciones causadas por enterobacterias multirresistentes aisladas en muestras clínicas. La resistencia a carbapenémicos en el ámbito hospitalario se puede atribuir a distintos mecanismos, entre los cuales se destacan las enzimas que hidrolizan este grupo de antibióticos.⁴

En enterobacterias, se han descrito las tres clases de enzimas con actividad frente a carbapenémicos, i) las carbapenemasas de clase A (como KPC), inhibibles por ácido borónico, ii) las de clase B (metalobetalactamasas como NDM, IMP y VIM), las cuales no presentan actividad frente a aztreonam y cuya acción es inhibida con EDTA; y iii) las de clase D (como la oxacilinasas OXA-48).³ Estas enzimas crean una complejidad terapéutica, ya que aún no se ha determinado la antibioticoterapia de elección frente a dichas cepas y, además, porque generan multirresistencia frente a otras familias de antibióticos. Una preocupación actual es que los genes que las codifican se encuentran incluidos en plásmidos conjugativos que les confieren a las bacterias un gran potencial de diseminación a otros patógenos nosocomiales. El uso desmedido de carbapenémicos es un factor importante en la generación y selección de organismos productores de carbapenemasas.⁵

La primera carbapenemasa identificada en enterobacterias fue SME-1 (*Serratia marcescens* enzyme) en Londres en 1982 y, posteriormente, en 1984, se describe la enzima IMI-1 (*imipenem-hydrolyzing* β -lactamase) en Estados Unidos.⁶ En 1996, se realizó el primer aislamiento clínico de *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenémicos

mediante la producción de carbapenemasa tipo KPC (*Klebsiella pneumoniae carbapenemasa*) en Carolina del Norte, Estados Unidos. En Argentina, la primera detección de *K. pneumoniae* productora de KPC fue a finales de 2006.⁷ En cuanto a NDM, los primeros microorganismos con este tipo de carbapenemasa fueron detectados en las Américas durante el 2010 en Estados Unidos y Canadá.^{8,9} En nuestro país, el primer aislamiento fue realizado a mediados del año 2013, en una cepa de *Providencia rettgeri* proveniente de un hospital de la Ciudad de Buenos Aires y solo presentó sensibilidad a gentamicina y ampicilina (fenotipo de extrema resistencia).¹⁰ Desde el descubrimiento de la carbapenemasa OXA-48, se han descrito múltiples variantes, que difieren en un pequeño número de aminoácidos con respecto a la secuencia de OXA-48 [OXA-48 like], entre las que se encuentran: OXA-162, OXA-163, OXA-181, OXA-204, OXA-232, OXA244 y OXA-245, entre otras. Desde las zonas tradicionalmente endémicas de enterobacterias productoras de OXA-48 (Turquía, Oriente Medio y África), en los últimos años se ha producido una rápida diseminación a los países europeos, mientras que en el continente americano, por el momento, solo se han comunicado casos esporádicos de enterobacterias productoras de OXA-48 like.¹¹

En el año 2014, la OMS informó que las cepas de *K. pneumoniae* resistentes a carbapenémicos se habían diseminado mundialmente y que el principal mecanismo de resistencia era la enzima KPC. Además, se había producido un aumento en la tasa de resistencia a carbapenémicos por sobre el 50 %, lo cual ha llevado a un incremento de la mortalidad y morbilidad en pacientes con infecciones por *K. pneumoniae* resistentes a carbapenémicos.¹² A comienzos de 2017, la OMS publicó una lista de patógenos prioritarios que representan la mayor amenaza para la salud humana. Se destacan en el grupo crítico las bacterias resistentes a los carbapenémicos como *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y enterobacterias resistentes a cefalosporinas de tercera generación y/o resistentes a carbapenémicos.⁷

La difusión mundial de cepas de *K. pneumoniae* productoras de KPC ha revelado la diseminación exitosa de un clon definido como *secuenciotipo* (ST) 258. La epidemiología de enterobacterias productoras de carbapenemasas (CPE) en nuestro país es fuertemente dominada por *K. pneumoniae* productora de KPC, mayoritariamente perteneciente al ST 258.¹³ El gen codificante para la enzima KPC ha sido comúnmente asociado con el transposón Tn4401, que es posiblemente responsable de su adquisición. Un entorno diferente fue descrito en plásmidos de enterobacterias detectadas en China, donde *bla*KPC se asoció con un transposón similar a Tn801. Además, ST11 demostró ser el clon dominante de *K. pneumoniae* productora de KPC en China, donde ST258 no fue detectado.¹⁴

El ST258 es un clon híbrido, derivado de eventos de recombinación entre el ST11 y ST442. Particularmente, ST258 es levemente virulento, sin embargo, las tasas de mortalidad atribuidas a este clon son elevadas, y esto puede ex-

plicarse, en parte, por la baja eficacia de los antimicrobianos utilizados contra *K. pneumoniae* productora de KPC y la gravedad de las condiciones subyacentes de los pacientes. En los últimos años, nuevas cepas de *K. pneumoniae* productoras de KPC han surgido en el nivel internacional y corresponden a clones hipervirulentos que han adquirido ampliamente marcadores genéticos de resistencia a los antimicrobianos.¹⁵

La detección de CPE por métodos fenotípicos es con frecuencia difícil. De hecho, estos aislamientos no siempre muestran un valor de concentración inhibitoria mínima (CIM) para carbapenémicos que esté en el rango de resistencia y que, por lo tanto, podría pasar desapercibido. La detección se basa primero en los resultados de las pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos obtenidos por métodos de difusión o por sistemas automatizados.¹⁶ En Argentina, para la sospecha fenotípica y la clasificación de los aislamientos, se utilizan los puntos de corte actuales del Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI) y del Comité Europeo de Susceptibilidad a los Antimicrobianos (EUCAST), además de las recomendaciones del Servicio de Antimicrobianos, Laboratorio Nacional de Referencia del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”).

Los procedimientos microbiológicos tradicionales requieren varios días para aislar los patógenos causantes, responsables de la infección y proporcionar los resultados de sensibilidad a los antimicrobianos. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es el método molecular más utilizado en estudios diagnósticos y epidemiológicos para la detección de resistencia a antibióticos. Consiste en la amplificación con cebadores específicos de un gen *target* que se supone que confiere la resistencia, y la posterior visualización de los productos de amplificación. Este tipo de técnicas permite obtener resultados en menos de 4 horas, lo que otorga utilidad para el diagnóstico rápido y tratamiento oportuno y específico de infecciones causadas por bacterias resistentes.¹⁷

El objetivo de este estudio fue describir las características epidemiológicas, fenotípicas y moleculares de las enterobacterias productoras de carbapenemasas CPE aisladas en distintos centros de salud de la ciudad de Mar del Plata. Los objetivos específicos fueron describir la epidemiología de las carbapenemasas en las diferentes poblaciones de los centros de salud de la ciudad de Mar del Plata a través de la caracterización fenotípica y genotípica de las CPE de tipo KPC, NDM y OXA-48 like, y detectar *Klebsiella pneumoniae* productora de KPC perteneciente al ST258 mediante la amplificación de gen *pilV*.

Materiales y métodos

Descripción del estudio

Ámbito de estudio: Se estudiaron cepas de CPE obtenidas de muestras clínicas en 5 centros de salud públicos y privados de la ciudad de Mar del Plata: Sanatorio Belgrano, Hospital Bernardo A. Houssay, Hospital Interzonal Especializado

Materno Infantil “Don Víctorio Tetamanti”, Hospital Interzonal General de Agudos “Dr. Oscar E. Alende” y el Instituto Nacional de Rehabilitación Psicosfísica del Sur. La investigación abarcó desde febrero de 2020 hasta noviembre de 2021.

Tipo de estudio y diseño: Se llevó a cabo un estudio descriptivo, observacional, transversal y prospectivo.

Población y muestra: Se incluyeron 103 enterobacterias obtenidas por cultivo de muestras clínicas (orina, sangre, partes blandas, hisopados de vigilancia, catéter, etc.), que fueron previamente identificadas como CPE o sospechosas de ser CPE mediante métodos fenotípicos. Las bacterias se clasificaron según género y especie, sitio de aislamiento clínico y tipo de carbapenemasa producida (KPC, MBL u OXA-48 like). Criterios de inclusión: Se incluyeron cultivos positivos para enterobacterias que cumplieran criterios para sospecha de carbapenemasa según algoritmos del Servicio de Antimicrobianos (LNR), INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán” (definidas en el apartado 2., “Métodos fenotípicos de identificación y sensibilidad”). Criterios de exclusión: Se excluyeron Bacilos gramnegativos no fermentadores u otras especies no incluidas en el orden de *Enterobacterales*.

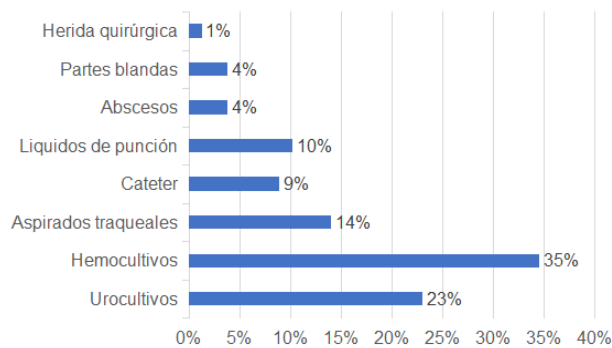
Métodos fenotípicos de identificación y sensibilidad

De cada cepa bacteriana aislada de un medio de cultivo, fue identificado el género y la especie por métodos manuales (pruebas bioquímicas para enterobacterias: citrato, SIM, urea, TSI, fenilalanina, etc) o automatizados (BD Phoenix). A su vez, se realizaron las pruebas de sensibilidad correspondientes a enterobacterias por métodos de difusión en discos y automatizados. Se estudiaron aquellas que presentaban halos de disco de imipenem ≤ 22 mm (Proteae: meropenem ≤ 22 mm) para sospecha de KPC y MBL o ertapenem ≤ 24 mm + piperacilina/tazobactam ≤ 15 mm para sospecha de OXA-48. En el caso de la utilización de equipos automatizados, se aplicó el criterio de la CIM a imipenem ≥ 2 $\mu\text{g/ml}$ (Proteae: meropenem ≥ 2 $\mu\text{g/ml}$) para KPC y MBL o CIM a ertapenem $\geq 0,5$ $\mu\text{g/ml}$ + CIM a piperacilina/tazobactam ≥ 64 $\mu\text{g/ml}$ + CIM a cefepime ≥ 16 $\mu\text{g/ml}$ para OXA-163. En cualquiera de estos casos, se procedió a la realización de diferentes métodos que dan sustento a la presencia de una carbapenemasa: método de Hodge, métodos colorimétricos (Blue Carba o Carba NP), método de discos combinados (DCM-Brit), método modificado de inactivación de carbapenemes (mCIM) e inmunocromatografías, según correspondiera.^{18,19}

Métodos genotípicos confirmatorios

La confirmación genotípica se realizó por métodos moleculares de PCR en tiempo real en el laboratorio de Biología Molecular del Instituto Fares Taie. Se hizo la detección de los genes implicados en los mecanismos que confieren resistencia a los carbapenémicos: *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{OXA48L}, según correspondiera, con el antibiograma previo realizado.

Extracción del ADN bacteriano: Se llevó a cabo a partir de aislamientos puros, utilizando el kit comercial *ADN High Pure PCR Template preparation Kit*, según indicaciones del

Figura 1. Distribución de los aislamientos bacterianos de muestras clínicas.

fabricante (Roche Diagnostics Corporation). Como control de la extracción, se realizó una PCR de detección de ADN ribosomal 16s.

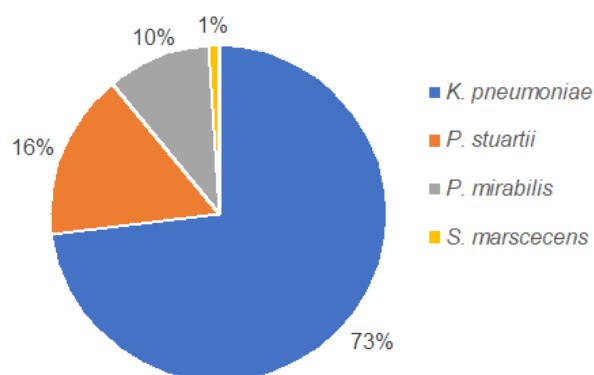
Detección de genes codificantes para carbapenemasas: Con el fin de detectar las variantes descriptas se llevaron a cabo amplificaciones por PCR en tiempo real en un termociclador Rotor Gene Q, utilizando una mezcla fluorescente EvaGreen preformada y optimizada con los componentes de la reacción (Master Mix 2X KAPA HRM, Biosystems), exceptuando *primers* y agua, en un volumen final de 20 μ l. Para cada gen, se validaron protocolos específicos basados en los utilizados por el Servicio de Antimicrobianos INEI-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", pero modificados para ser realizados por PCR en tiempo real.

Protocolo para la detección de *bla*_{KPC}: Con los cebadores KPC-F 5-AACAAGGAATATCGTTGATG-3 y KPC-R 5-AGATGATTT-CAGAGCCTTA-3-] se amplifica un producto de 916 pb mediante el siguiente programa de ciclado: 3 minutos a 95°C y 40 ciclos de 30 segundos a 95°C, 40 segundos a 54°C y 40 segundos a 72°C.

Protocolo para la detección de *bla*_{NDM}: Con los cebadores NDM-F 5-AGCACACTTCTATCTCGAC-3 y NDM-R 5-GGCGTAGT-GCTCAGTGTC-3-] se amplifica un producto de 512 pb mediante el siguiente programa de ciclado: 3 minutos a 95°C y 40 ciclos de 30 segundos a 95°C, 30 segundos a 52°C y 40 segundos a 72°C.

Protocolo para la detección de *bla*_{OXA48L}: Con los cebadores OXA48-F 5-ATGCGTGTATTAGCCTTATCGG-3 y OXA48-R 5-TGAGCACTTCTTTTGTGATG-3, se amplifica un producto de 775 pb mediante el siguiente programa de ciclado: 3 minutos a 95°C y 40 ciclos de 30 segundos a 95°C, 30 segundos a 54°C y 40 segundos a 72°C.

Confirmación por secuenciación: Durante el proceso de puesta a punto de las metodologías moleculares, se estudió la secuencia de los amplicones generados con el fin de corroborar la especificidad de las PCR para detectar las diferentes resistencias. Los fragmentos de ADN amplificados se purificaron con el kit de purificación de gel Accuprep (Bio-ner, Corea del Sur) y se secuenciaron directamente (ABI 3500 Genetic Analyzer, Applied Biosystems, Foster City, CA, EE. UU.). Las similitudes de secuencias se determinaron

Figura 2. Identificación de los aislamientos según género y especie.

mediante la herramienta de búsqueda de alineación local básica BLAST, NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>).

Detección del gen *pilV*: En aquellos aislamientos de *K. pneumoniae* productores de KPC, se realizó la detección del gen *pilV* utilizado como marcador del clon internacional ST258. Como cebadores se utilizaron el *pilV* TGATGCTGAT-GGCAGACTGA y *pilV*R TGTAGTCACACCTGCCCA, que amplifican un producto de 320 pb.

Resultados

Análisis del total de aislamientos

De las 103 cepas remitidas al laboratorio, 25 fueron aisladas de muestras de hisopados rectales de vigilancia, mientras que las 78 restantes correspondieron a muestras clínicas de infecciones. La distribución según origen de estas últimas fue: 35 % (n=27) de hemocultivos, 23 % (n=18) de urocultivos, 14 % (n=11) de aspirados traqueales, 10 % (n=8) de líquidos de punción, 9 % (n=7) de catéteres, 4 % (n=3) de abscesos, 4 % (n=3) de partes blandas y 1 % (n=1) de heridas quirúrgicas (Figura 1).

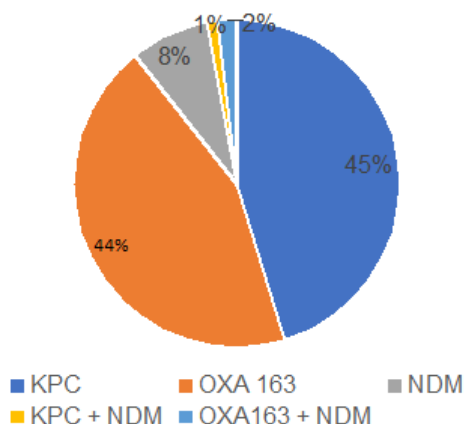
Del total de cepas, 73 % (n=75) correspondió a *K. pneumoniae*, mientras que un 16 % (n=17), a *Providencia stuartii*, un 10 % (n=10), a *Proteus mirabilis* y un 1 % (n=1), a *Serratia marcescens* (Figura 2).

Se logró la correcta puesta a punto de las metodologías moleculares y la especificidad de las mismas fue corroborada por secuenciación. En cuanto a los resultados obtenidos del estudio de los diferentes aislamientos, el 45 % (n=47) fueron productores de KPC, el 44 % (n=45) de OXA-163, el 8 % (n=8) de NDM y el 3 % (n=3) fueron dobles productores de carbapenemasas: uno de ellos de KPC y NDM y dos de ellos de OXA-163 y NDM (Figura 3).

Distribución en el tiempo

Con base en los períodos de tiempo estudiados, se observó que, durante el año 2020, prevalecieron las carbapenemasas productoras de KPC, mientras que durante el año 2021, esto se fue modificando con un claro aumento de las carbapenemasas de tipo OXA-163 y la aparición de las cepas dobles productoras de carbapenemasas (DP) (Figura 4).

Figura 3. Tipos de carbapenemasas.



Distribución de aislamientos por centro de salud

De los 103 aislamientos totales, el 53 % (n=55) fue remitido del HIGA Dr. Alende; el 23 % (n=24), del Hospital Houssay; el 10 % (n=10), del Sanatorio Belgrano; el 8 % (n=8), del INAREPS y el 6 % (n=6), del HIEMI V Tetamanti. La distribución de carbapenemasas en cada centro de salud se observa en la Figura 5.

Detección del gen *pilV* en aislamientos de *K. pneumoniae* productores de KPC

De los 47 aislamientos de *K. pneumoniae* productores de KPC, en solo 7 (15 %) se detectó el gen *pilV*, utilizado como marcador del clon ST258. En el 85 % restante (40 aislamientos), la PCR resultó no detectable para este marcador (Figura 6).

Los aislamientos pertenecientes al ST258 fueron hallados en dos de los centros de salud estudiados: 2 de ellos en el Sanatorio Belgrano y 5 en el Hospital Houssay. Todos ellos aparecieron dentro de los primeros tres meses que abarcó la investigación.

Figura 5. Distribución de carbapenemasas en los cinco centros de salud.

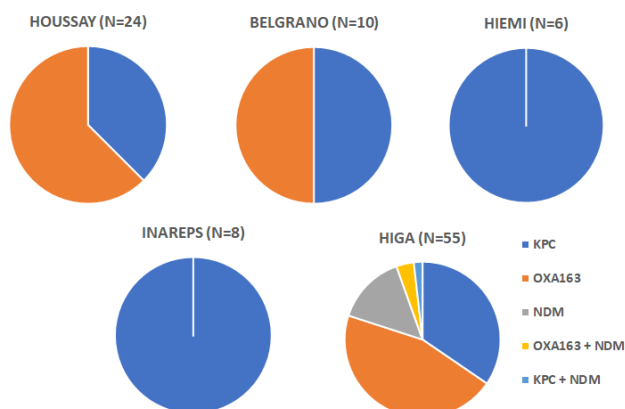
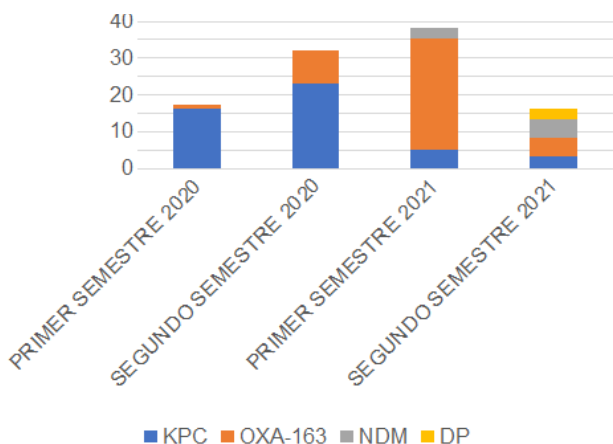


Figura 4. Distribución de carbapenemasas en los períodos de tiempo estudiados.

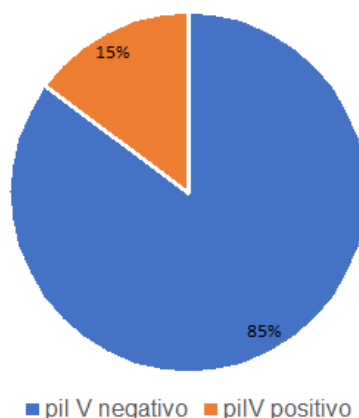


Discusión

Los carbapenémicos constituyen uno de los grupos de antibióticos disponibles más potentes que existen y son el tratamiento de elección para infecciones graves causadas por enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y para infecciones nosocomiales producidas por *P. aeruginosa* y *A. baumannii* multiresistentes. Su amplia utilización durante los años 80 y 90 para el tratamiento de infecciones originadas por *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE ha contribuido, junto con otros factores, al rápido desarrollo de la resistencia a carbapenémicos. En la actualidad, la diseminación de CPE se considera un grave problema en la práctica clínica debido al fracaso en el tratamiento de las infecciones que ellas producen.

Esta investigación resume el trabajo colectivo y permanente de 2 años (2020 - 2021) realizado en diferentes laboratorios de la ciudad de Mar del Plata, en Argentina, contribuyendo al conocimiento de la prevalencia de estos patógenos en la localidad. A lo largo del estudio, se identificaron 4 especies distintas de CPE, de las que *K. pneumoniae* fue la más frecuentemente aislada y representó el 76 % de las cepas, coincidiendo con lo

Figura 6. Detección del gen *pilV* en *K. pneumoniae* productores de KPC.



referido en bibliografía nacional y mundial.^{6,20,21}

En cuanto a los mecanismos enzimáticos, tanto las enzimas de tipo KPC como OXA-163 fueron las más prevalentes en nuestra ciudad. Si bien es coincidente con la situación epidemiológica de Provincia de Buenos Aires y CABA, esto no sucede en otras provincias del país donde no es tan frecuente el aislamiento de CPE de tipo OXA-163.²²

La coproducción de distintas carbapenemasas en una misma cepa se ha descrito por primera vez en Argentina durante la primera ola de la pandemia de COVID-19, en 2020.²³ En el presente estudio, recién en el último período de tiempo estudiado (noviembre de 2021) aparecieron las primeras cepas DP solo en uno de los hospitales participantes. Estos aislamientos constituyen un doble desafío para el control de infecciones y para la selección del tratamiento antimicrobiano óptimo. Las pruebas fenotípicas pueden no poner de manifiesto la presencia de ambas carbapenemasas, por lo que se destaca la importancia de utilizar métodos adecuados y complementarlos con técnicas moleculares de detección genotípica.

Es importante resaltar que todos los aislamientos fueron de pacientes internados, por lo que se puede atribuir su existencia a ciertos factores de riesgo como haber recibido tratamientos antibióticos previos, haber sido sometidos a intervenciones quirúrgicas, presencia de dispositivos (sondas urinarias y catéteres centrales), presencia de comorbilidades y estancias hospitalarias prolongadas. Debe destacarse la alta proporción de bacteriemias (27 %) producidas por estas bacterias, siendo esta la situación clínica más grave que puede llevar al aumento en las tasas de mortalidad en el ámbito hospitalario.

K. pneumoniae ST258 es un clon de alto riesgo y ha sido en gran parte responsable de la propagación global de la resistencia a los carbapenémicos entre las enterobacterias.¹⁵ La amplificación del gen *pilV* en aislamientos de *K. pneumoniae* productores de KPC se encuentra asociada al clon ST258. En nuestro estudio, se vio que la mayoría de los aislamientos no pertenecían a este secuenciotipo, lo que indicaría que hay una mayor diversidad de clones circulantes o que el clon ST258 fue reemplazado por otro clon mayoritario.

El presente es el primer trabajo en el cual se estudia en profundidad la epidemiología de las CPE en la ciudad de Mar del Plata y constituye un importante aporte, ya que debido al aumento en el uso indiscriminado de antibióticos, la resistencia antimicrobiana se ha convertido en una amenaza para la salud pública.

Referencias bibliográficas

- Famiglietti A, Quinteros M, Vázquez M, Marín M, Nicola F, Radice M, et al. Consenso sobre las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos en Enterobacteriaceae. Rev Argent Microbiol. 2005;37: 57-66.
- Lazovski J, Corso A, Pasteran F, Monsalvo M, Frenkel J, Cornistein W, et al. Estrategia de control de la resistencia bacteriana a los antimicrobianos en Argentina. Rev Panam Salud Pública. 2018;41:e88.
- Navarro F, Miró E, Mirelis B. Lectura interpretada del antibiograma de enterobacterias. Enfermedades Infecc Microbiol Clínica. 2010;28(9):638-45.
- Gomez S, Rapoport M, Togneri A, Viegas-Caetano J, Faccione D, Corso A, et al. Emergence of Metallo- β -lactamases in Enterobacteriaceae from Argentina. Diagn Microbiol Infect Dis. 2011;69(1):94-7.
- García DMM. Carbapenemasas, una amenaza actual. Rev Cuba Med Intensiva Emerg. 2012;11(4):2613-2618.
- Vera-Leiva A, Barría-Loaiza C, Carrasco-Anabalón S, Lima C, Aguayo-Reyes A, Domínguez M, et al. KPC: Klebsiella pneumoniae carbapenemasa, principal carbapenemasa en enterobacterias. Rev Chil Infectol. 2017;34(5):476-84.
- Córdova E, Lespada MI, Gómez N, Pasterán F, Oviedo V, Rodríguez-Ismael C. Descripción clínica y epidemiológica de un brote nosocomial por Klebsiella pneumoniae productora de KPC en Buenos Aires, Argentina. Enfermedades Infecc Microbiol Clínica. 2012;30(7):376-379.
- Center of Disease Control and Prevention. Detection of Enterobacteriaceae Isolates Carrying Metallo-Beta-Lactamase - United States, 2010. Morb Mortal Wkly Rep. 2010;59(24):750.
- Mulvey MR, Grant JM, Plewes K, Roscoe D, Boyd DA. New Delhi Metallo- β -Lactamase in Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli, Canada. Emerg Infect Dis. 2011;17(1):103.
- Pasteran F, Meo A, Gomez S, Derdoy L, Albronz E, Faccione D, et al. Emergence of genetically related NDM-1-producing Providencia rettgeri strains in Argentina. J Glob Antimicrob Resist. 2014;2(4):344-345.
- Carrascoso GR. Características microbiológicas y clínico-epidemiológicas de enterobacterias productoras de carbapenemasa oxa-48 en el contexto de un brote hospitalario. Tesis inédita de la Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Farmacia, Departamento de Microbiología. 2016.
- World Health Organization. Regional Office for Europe. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2014. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/346076>
- Anchordoqui MS, De Belder D, Lucero C, Rapoport M, Faccione D, Rodriguez A, et al. In vivo horizontal dissemination of the blaKPC-2 gene carried on diverse genetic platforms among clinical isolates of Enterobacteriaceae. J Glob Antimicrob Resist. 2015;3(3):210-213.
- Gomez SA, Pasteran FG, Faccione D, Tijet N, Rapoport M, Lucero C, et al. Clonal dissemination of Klebsiella pneumoniae ST258 harbouring KPC-2 in Argentina. Clin Microbiol Infect. 2011;17(10):1520-1524.
- Cejas D, Elena A, Guevara Nuñez D, Sevillano Platero P, De Paulis A, Magariños F, et al. Changing epidemiology of KPC-producing Klebsiella pneumoniae in Argentina: Emergence of hypermucoviscous ST25 and high-risk clone ST307. J Glob Antimicrob Resist. 2019;18:238-242.
- Hara GL, Gould I, Endimiani A, Pardo PR, Daikos G, Hsueh PR, et al. Detection, treatment, and prevention of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: Recommendations from an International Working Group. J Chemother. 2013;25(3):129-140.
- Lupo A, Papp-Wallace KM, Sendi P, Bonomo RA, Endimiani A. Non-phenotypic tests to detect and characterize antibiotic resistance mechanisms in Enterobacteriaceae. Diagn Microbiol Infect Dis. 2013;77(3):179-194.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility. M100-S27. 2020.
- Prat Miranda MS. Recomendaciones para detección de carbapenemasas en enterobacterias y Pseudomonas aeruginosa. Chile: Instituto de Salud Pública. Ministerio de Salud; 2018.
- Nastro DM, de Gregorio S, Rodríguez H, Farina J, Foccoli M, Vay C, et al. Enterobacterias portadoras de KPC en un hospital universitario. Rev Asoc Médica Argent. 2016;129(2):3.
- Tártara SG. Patógenos emergentes - Tercera parte «Klebsiella pneumoniae productora de carbapenemasas (Kpn-KPC)». Rev Nefrol Dial Trasp. 2013;33(2):7.
- Gritti MA, Favalesso MM, Capará LGG, Peichoto ME. Resistencia a antibióticos de relevancia clínica en un hospital de Corrientes. Medicina (Mex). 2021;81(6):8.
- Pasteran F, Ceriana P, Lucero C, Faccione D, Gomez S, De Belder D, et al. Emergence of Enterobacteriales with co-expression of two carbapenemasas during COVID-19 pandemic in Argentina: KPC+NDM, NDM+OXA-48 and KPC+IMP. 2021. Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2021/04/Emergence-of-Enterobacteriales-with-co-expression-of-two-carbapenemasas-during-COVID-19-pandemic-in-Argentina.pdf>

ARTÍCULO ORIGINAL

Análisis de la longitud de telómeros como marcador del estado metabólico

Analysis of the telomere length as a marker of the metabolic condition

Millán, Andrea Liliana^{1*}; Pautasso, María Constanza¹; Rojo, Mailén¹; Linari, María Amelia⁵; Beskow, Axel⁴; Gutt, Susana³; Frechtel, Gustavo Daniel¹; Cerrone, Gloria Edith²

¹Laboratorio de Diabetes y Metabolismo, Instituto de Inmunología, Genética y Metabolismo (INIGEM), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. CABA, Argentina.

²Departamento de Microbiología, Inmunología, Biotecnología y Genética, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. CABA, Argentina.

³Servicio de Clínica Médica, Sección Nutrición, Hospital Italiano. CABA, Argentina.

⁴Servicio de Cirugía General, Sección Esofagogástrica, Hospital Italiano. CABA, Argentina.

⁵Sección de Endocrinología y Nutrición, Unión Obrera Metalúrgica (UOM). Vicente López, Buenos Aires, Argentina.

*Contacto: Millán, Andrea Liliana. Instituto de Inmunología Genética y Metabolismo, CABA, Argentina; amillan@docente.ffyb.uba.ar, lic.andreamillan@gmail.com.

Resumen

La longitud telomérica leucocitaria absoluta (LTLa) es considerada un marcador del envejecimiento celular y podría ser un biomarcador de la prevalencia y progresión de enfermedades metabólicas. El objetivo de este estudio fue determinar la LTLa por qPCR, en un estudio transversal, su asociación con variables bioquímico-clínicas y los distintos componentes del síndrome metabólico (SM). Por otra parte, se realizaron dos estudios prospectivos controlados para evaluar los cambios en la LTLa en individuos con diabetes tipo 2 (DT2), sometidos a un tratamiento antidiabético y en pacientes con obesidad luego de una cirugía bariátrica (CB). Observamos una disminución de la LTLa con el aumento en el número de componentes del SM (0, 1, 2 componentes o SM; $p < 0,001$), y también, diferencias entre los grupos 0 vs. 1 ($p = 0,010$), 0 vs. 2 ($p < 0,001$) y 0 vs. SM ($p < 0,001$). En DT2 observamos cambios en la LTLa luego del tratamiento. Sin embargo, encontramos una asociación positiva significativa entre la variación de la LTLa y la dosis de metformina empleada ($p = 0,048$). En pacientes obesos, la LTLa aumentó significativamente a los 6 meses post-CB ($p = 0,013$), lo cual se debe, probablemente, al mejoramiento del estado metabólico y a la disminución del estado de inflamación observados. Este aumento se evidenció principalmente a expensas de los pacientes con obesidad mórbida, ($p = 0,022$), en los cuales los mayores aumentos en la LTLa se asociaron a mayores descensos en la PCR como marcador de inflamación ($p = 0,024$).

Palabras clave: longitud telomérica, síndrome metabólico, obesidad, diabetes.

Abstract

Introduction: The absolute leukocyte telomere length (aLTL) is considered a marker of cellular aging and could be a biomarker of the prevalence and progression of metabolic diseases. **Objective:** Our objective was to determine the aLTL by qPCR, in a cross-sectional study, and assess its association with biochemical-clinical variables and the different components of Metabolic Syndrome (MS). On the other hand, two prospective controlled studies were performed to evaluate changes in aLTL in individuals with type 2 diabetes (T2D) undergoing antidiabetic treatment, and obese patients after bariatric surgery (BS). **Results:** We observed a decrease in the aLTL with the increase in the number of components of the MS (0, 1, or 2 components or MS; $p < 0.001$), observing differences between groups 0 vs 1 ($p = 0.010$), 0 vs 2 ($p < 0.001$) and 0 vs SM ($p < 0.001$). In T2D, a variation was found in aLTL after antidiabetic treatment. However, we found a significant positive association between the variation in aLTL and the dose of metformin used ($p = 0.048$). In obese patients, aLTL significantly increased 6 months after BS ($p = 0.013$), which is probably due to the improvement in the metabolic status and the decrease in the inflammation status. This increase was observed mainly at the expense of morbidly obese patients ($p = 0.022$), in whom the greatest increases in aLTL were associated with greater decreases in PCR as a marker of inflammation ($p = 0.024$).

Keywords: Telomere Length, Metabolic Syndrome, Obesity, Diabetes.

Introducción

Los telómeros son un gran complejo de nucleoproteínas, que se encuentra en los extremos de los cromosomas, y están compuestos por secuencias repetitivas cortas no codificantes¹. En los vertebrados, incluidos los humanos, la secuencia repetitiva (TTAGGG/CCCTAA) se extiende hasta unos 15 kb de longitud en forma de doble cadena y hacia el extremo 3' de los cromosomas, unos 50 a 300 nucleótidos como cadena simple²⁻⁴. La hebra sobresaliente 3' de ADN telomérico se inserta en el ADN de doble cadena a partir de la formación de un *T-loop* estabilizado por proteínas de unión a telómeros. Esta estructura estable protege los extremos de los cromosomas de la degradación, recombinación o fusión con otros extremos cromosómicos, además de evitar la activación de los mecanismos de reparación de daño del ADN. En este sentido, los telómeros funcionales desempeñan un papel esencial en la integridad y la estabilidad de los cromosomas⁵⁻⁶.

Durante la replicación del ADN, la longitud de los telómeros puede sufrir una reducción de alrededor de 20 a 40 pares de bases por año debido al problema de replicación final^{7,8}, lo que induce la senescencia replicativa o apoptosis de las células, cuando se alcanza un umbral de acortamiento crítico. Según este mecanismo, los telómeros actúan como un reloj mitótico que determina la vida replicativa de una célula, y la medida de la longitud telomérica (LT) se reconoce como un importante biomarcador del envejecimiento celular⁹⁻¹¹.

Los telómeros se acortan a medida que avanza la edad del individuo y están relacionados con un mayor riesgo de mortalidad y de aparición de enfermedades relacionadas con el envejecimiento. No obstante, la LT es una característica individual, que puede variar entre individuos de una misma edad en respuesta a factores genéticos y ambientales¹²⁻¹⁴.

El estrés oxidativo y la inflamación son los principales procesos celulares asociados al acortamiento acelerado de la LT. La acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS) conduce a una mayor tasa de acortamiento debido a una reparación menos eficiente de las roturas de una sola hebra en los propios telómeros, que resultan más susceptibles al daño oxidativo por el alto contenido G en su secuencia¹⁵⁻¹⁷. Además, se ha demostrado que las células senescentes que producen marcadores proinflamatorios como la interleucina 6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) se caracterizan por tener telómeros críticamente cortos¹⁸. Teniendo en cuenta que la inflamación crónica se reconoce como el mecanismo fisiopatológico central involucrado en la génesis de la enfermedad metabólica¹⁹, parece razonable considerar que la presencia del síndrome metabólico (SM) determine un desgaste adicional de la LT.

El SM es un conjunto de factores cardiometabólicos interrelacionados que incluye obesidad central, hipertensión arterial, hiperglucemia, dislipidemia aterogénica (hipertrigliceridemia y disminución del colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (HDL)). Todos ellos están asociados con una esperanza de vida más corta y son conocidos por ser los principales factores de riesgo para el desarrollo de patologías

relacionadas con la edad como la enfermedad cardiovascular (ECV) y la diabetes²⁰⁻²¹. Por lo tanto, una temprana y precisa identificación de individuos de alto riesgo de SM podría ser importante para prevenir este tipo de enfermedades.

La obesidad y, fundamentalmente, la central o visceral, es el principal componente del SM que determina la progresión a estas complicaciones metabólicas y es un factor de riesgo independiente de las complicaciones cardiovasculares²². Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el sobrepeso y la obesidad constituyen uno de los factores de riesgo de mortalidad en el mundo, que causan al menos 3,4 millones de muertes por año. La gravedad de la enfermedad queda de manifiesto considerando que su prevalencia mundial se ha triplicado entre 1975 y 2020²³. De acuerdo con la 4^o Encuesta Nacional de Factores de Riesgo para Enfermedades no Transmisibles (ENFR) realizada en 2018 en la República Argentina, 6 de cada 10 personas presentaban exceso de peso (sobrepeso + obesidad) y 3 de cada 10, obesidad. Estas cifras representan un incremento en la prevalencia de obesidad del 22 % con respecto al 2013 y del 74 % respecto de la primera edición, del año 2005, de dicha encuesta²⁴. Los pacientes con sobrepeso u obesidad tienen mayor probabilidad de presentar distintas comorbilidades, de acuerdo con la magnitud del exceso de peso y su localización central o periférica, como son la dislipemia aterogénica, la diabetes tipo 2 (DT2), la hipertensión arterial, el hígado graso no alcohólico y el síndrome de ovario poliquístico²⁵. Las intervenciones más conservadoras como la implementación de una dieta hipocalórica, de un plan de actividad física o de tratamiento farmacológico pueden resultar eficaces en el abordaje del sobrepeso o la obesidad moderada. No obstante, ante casos de obesidad mórbida, los cuales presentan frecuentemente complicaciones que aumentan significativamente la morbimortalidad por enfermedad cardiovascular, la intervención quirúrgica resulta la única estrategia capaz de producir un descenso de peso suficiente y sostenible a mediano y largo plazo. Si, además de ello, la cirugía bariátrica condujese a una reversión de las comorbilidades, representaría un beneficio para la biología del telómero y un impacto directo en la salud del individuo.

En Argentina, la prevalencia de diabetes es cercana al 10%, similar a la de otros países latinoamericanos y a la mayoría de los países industrializados^{26,27}. La DT2 es una enfermedad crónica, de origen multifactorial, que se presenta en alrededor del 90 % de los pacientes con diabetes y está caracterizada por una serie de trastornos metabólicos como sobrepeso/obesidad, dislipidemia, resistencia a la insulina (IR) secundaria a sobrepeso/obesidad y un estado de inflamación subclínica sistémica, secundaria a una hiperactividad de la inmunidad innata²¹. En este contexto de inflamación subclínica, con la subsecuente exacerbación de la IR y daño progresivo de la célula beta pancreática, existe en los pacientes con DT2 un estado de hiperglucemia sostenido en el tiempo que, si no es debidamente controlado, genera daño tisular progresivo. Uno de los mecanismos a través de los cuales la hiperglucemia

mia contribuye al daño es el aumento del stress oxidativo en el nivel celular como consecuencia de la producción elevada de especies reactivas del oxígeno (ROS) por la cadena respiratoria mitocondrial durante los estados hiperglucémicos. El aumento de la producción de ROS puede alterar en forma directa lípidos, proteínas y ADN y afectar vías de transducción de señales, lo que resulta, en ocasiones, en modificaciones oxidativas irreversibles. En ausencia de una adaptación apropiada del sistema de defensa antioxidante endógeno, la acumulación de ROS activa vías de señalización que promueven el daño celular y contribuyen al desarrollo de las complicaciones y progresión de la enfermedad²⁸⁻²⁹.

Como se mencionó anteriormente, el estrés oxidativo y la inflamación son los principales procesos celulares asociados al acortamiento acelerado de la LT. Diversos trabajos han evidenciado una disminución significativa de la LT en pacientes con obesidad y DT2, cuando se los compara con individuos controles pareados por sexo y edad. En ellos se observa que el grado de disminución de la LT se incrementa conforme con el mayor tiempo de exposición a estados inflamatorios y niveles elevados de ROS³⁰⁻³². Además, se ha reportado que el aumento en el número de componentes del SM que presenta un individuo se correlaciona con una disminución progresiva del tamaño del telómero, hecho que representa un perfil metabólico más severo en aquellos pacientes con telómero más corto¹¹. Por nuestra parte, hemos publicado un trabajo que corrobora estas afirmaciones y encontramos que las mujeres obesas metabólicamente sanas tienen telómeros más largos que las mujeres obesas con síndrome metabólico³³. En este sentido, la medida de la LT puede predecir el deterioro de la condición metabólica de un individuo.

El objetivo de este estudio fue analizar la longitud de los telómeros en individuos con distintas enfermedades metabólicas: en primer lugar, comparar la longitud telomérica entre individuos normopeso metabólicamente sanos e individuos con obesidad y síndrome metabólico o metabólicamente sanos, y buscar una relación con el número de alteraciones metabólicas; además, estudiar el cambio de la longitud de los telómeros luego de la compensación metabólica de individuos con reciente diagnóstico de diabetes de tipo 2; por último, analizar el cambio de la longitud telomérica luego de una cirugía bariátrica en individuos obesos comparándolo de acuerdo con el tipo de intervención quirúrgica y el grado de obesidad.

Materiales y métodos

Diseño del estudio y poblaciones

Estudio epidemiológico transversal

Se incluyeron en el estudio individuos adultos no relacionados, de ambos sexos, pertenecientes a la población general de Venado Tuerto, provincia de Santa Fe. Fueron reclutados aleatoriamente, entre 2011 y 2017, a través de un diseño de muestreo estratificado, en múltiples etapas.

Se procedió al diagnóstico de SM mediante los criterios del *Adult Treatment Panel III (ATP III)*³⁴, a partir de la presencia de tres o más de los factores de riesgo cardiometabólico. La pre-

sencia de obesidad se determinó a partir del índice de masa corporal (IMC) ≥ 30 Kg m⁻². Se procedió a la conformación de 3 grupos: uno de individuos con peso normal y sin componentes del SM, que conformó el grupo control, llamado *NPO* (NP: normopeso, O: sin componentes del SM); el segundo grupo, *OMS*, (O: obesos, MS: metabólicamente sanos, de acuerdo con el trabajo logrado por un consenso de sociedades médicas internacionales³⁵) conformado por individuos con obesidad y que presentan hasta 2 de las alteraciones metabólicas características del SM y un tercer grupo de individuos con obesidad y SM, llamado *OSM* (O: obesos, SM: síndrome metabólico).

Estudios prospectivos controlados

Protocolo de compensación metabólica en individuos con DT2 mediante tratamiento farmacológico y cambios en el estilo de vida

Con el objetivo de analizar los efectos del control metabólico sobre la LTL a partir de cambios en el estilo de vida, estudiamos un subgrupo de individuos con DT2, antes y después de la intervención con un tratamiento farmacológico y cambios en el estilo de vida. Se incluyeron pacientes con DT2 de reciente diagnóstico y con descontrol metabólico, caracterizado por la determinación de hemoglobina glicosilada (HbA1c) mayor de 8 %, los cuales conformaron el grupo preintervención (0 meses). Estos pacientes recibieron tratamiento farmacológico y medidas higiénico - dietéticas con el fin de lograr la compensación metabólica, demostrada por una disminución en el valor de HbA1c a 7 % o menos. El tratamiento farmacológico incluyó la utilización de drogas antidiabéticas orales, según prescripción médica. Las medidas higiénico - dietéticas incluyeron dieta y ejercicio físico en todos los pacientes. Todos los pacientes fueron reanalizados después de 6 meses de tratamiento y constituyeron el grupo posintervención (6 meses). Todos los participantes dieron su consentimiento informado por escrito y fueron seleccionados de acuerdo con:

- Criterios de inclusión: adultos caucásicos no relacionados; de ambos sexos; de 30 a 70 años; nativos argentinos y residentes en zonas urbanas de Buenos Aires; sin antecedentes patológicos personales previos excepto la posible existencia de hipertensión, dislipidemia y/o sobrepeso / obesidad.
- Criterios de exclusión: cualquier patología excepto los factores de riesgo cardiovascular mencionados; embarazo; etilismo; drogadicción; antecedentes o sospecha de pancreatitis; consumo reciente de agentes hiperglucemiantes como, por ejemplo, tratamiento con corticoides (<3 meses) e inestabilidad en el peso corporal (pérdida >3 kg en los últimos 12 meses).

Protocolo de intervención con cirugía bariátrica en individuos con obesidad

Por otro lado, estudiamos un subgrupo de pacientes con obesidad antes de la cirugía bariátrica (preintervención) y 6 meses después (posintervención). La cirugía bariátrica laparoscópica fue indicada de acuerdo con criterios habitua-

les de nuestra práctica clínica, basados en los siguientes requisitos de selección:

- Criterios de inclusión: pacientes entre 18 y 65 años, con indicación absoluta de cirugía bariátrica, con IMC mayor que 40 kg/m² (indicativo de obesidad mórbida) o IMC mayor que 35 kg/m², con grandes comorbilidades asociadas, susceptibles de responder al descenso de peso (diabetes mellitus tipo 2, hipertensión arterial, dislipemia, síndrome de apnea obstructiva del sueño).
- Criterios de exclusión: 1- Contraindicaciones absolutas para cirugía o cirugía bariátrica: trastornos de la coagulación; alta comorbilidad; infección activa; trastornos endocrinológicos que justifiquen la obesidad; inestabilidad psicológica o dificultades en la comprensión del procedimiento o los tratamientos asociados; Inmunodeficiencias primarias o secundarias: infección por HIV/SIDA, enfermedad oncológica activa, medicación con corticoides o inmunomoduladores/inmunosupresores crónicos; trasplantes; 2- Antecedente de enfermedades crónicas con inflamación sistémica: enfermedad inflamatoria intestinal, asma bronquial, autoinmunes (artritis reumatoidea, esclerodermia, lupus, polimiositis) y neurodegenerativas (esclerosis lateral amiotrófica, Alzheimer, neurosífilis, esclerosis múltiple, polineuropatías inflamatorias); 3- Tratamiento con drogas que pudiesen afectar el metabolismo de los hidratos de carbono o de los lípidos, así como también con antioxidantes.

Determinaciones bioquímicas, clínicas y antropométricas

Cada individuo reclutado informó su edad y sexo. Las me-

didias antropométricas (altura, peso, circunferencia de cintura [CC]) y el IMC se determinaron mediante un protocolo estandarizado.

Para las determinaciones bioquímicas, los participantes asistieron en ayunas de 12 horas, y se les determinó en suero la glucemia en ayunas (GSA), el colesterol total, colesterol de alta densidad (c-HDL) y los triglicéridos (TG) por métodos enzimáticos utilizando kits comerciales en un autoanalizador Hitachi 727. La insulina sérica se midió mediante un inmunoensayo de electroquimioluminiscencia en el sistema autoanalizador Cobas E411. Los niveles séricos de proteína C reactiva de alta sensibilidad (hs-CRP) se midieron mediante un ensayo de inmunonefelometría de partículas en un sistema Siemens BN perspectiva Nefelómetro y la hemoglobina glicosilada (HbA1c) se determinó por el método inmunoturbidimétrico en un sistema *Architect*. Como indicador de IR, se utilizó el *Homeostatic model assessment* (HOMA) calculado como glucemia (mM) x insulinemia (mUI/L) / 22,5. El colesterol de lipoproteínas de baja densidad (c-LDL) se calculó mediante la fórmula de Friedewald: CT (mg/dl) – [c-HDL (mg/dl) + TG (mg/dl) / 5].

Estudios moleculares

Se procedió a la extracción del ADN genómico, a partir de leucocitos de sangre periférica, por la técnica del CTAB³⁶. La integridad del ADN genómico se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa. Las concentraciones de ADN de cada muestra se determinaron mediante espectrofotometría a 260nm, en un espectrofotómetro DS-11 (Denovix®). Las relaciones de absorbancias A260/280 y A260/230

Tabla I. Características bioquímicas, clínicas y antropométricas de la población.

	NPO	OMS	OSM
	Media ± DS	Media ± DS	Media ± DS
Edad (años)	36 ± 13a	42 ± 15b	51 ± 10c
Peso (Kg)	62,18 ± 7,98a	90,05 ± 41,81b	93,70 ± 17,62b
IMC (Kg m ⁻²)	22,43 ± 1,72a	32,70 ± 5,07b	31,94 ± 5,45b
CC (cm)	78,13 ± 6,91a	102,11 ± 12,32b	107,71 ± 13,33c
HbA1c (%)	5,4 ± 0,5a	5,4 ± 0,6a	5,2 ± 0,3a
GPA (mg dL ⁻¹)	95 ± 34a	93 ± 9a	109 ± 41b
CT (mg dL ⁻¹)	185 ± 42a	196 ± 35a	194 ± 34a
c-HDL (mg dL ⁻¹)	109 ± 32a	119 ± 27a	118 ± 31a
c-LDL (mg dL ⁻¹)	57 ± 13a	56 ± 13a	43 ± 9b
TG (mg dL ⁻¹)	89 ± 46a	96 ± 40a	180 ± 104b

► NPO, normopeso sin componentes del síndrome metabólico; OM, obeso metabólicamente sano con hasta 2 alteraciones metabólicas del síndrome metabólico; OSM, obeso con síndrome metabólico; IMC, índice de masa corporal; CC, circunferencia de cintura; GPA, glucemia plasmática en ayunas; CT, colesterol total; LDL, colesterol de lipoproteínas de baja densidad; HDL, colesterol de lipoproteínas de alta densidad; TG, triglicéridos; HbA1c, hemoglobina glicosilada. Las variables se presentan como media ± desviación típica (DS) para cada grupo. Los valores de las variables para cada grupo que no comparten el mismo carácter presentan diferencias significativas con una p < 0,05.

permitieron evaluar la pureza de las muestras. Luego de la cuantificación, las muestras se diluyeron a una concentración de 5 ng/μl en un volumen de trabajo de 30 μl y se congelaron a -20°C hasta su utilización.

Determinación de la LTLa absoluta

La determinación de la LTLa absoluta en muestras de ADN genómico se llevó a cabo por PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR) con el método de SYBR™ Green, como se ha descrito previamente³⁷. Para cada muestra de ADN, se realizó la amplificación por el método de *real time* en un ciclador Step One de Applied Biosystem, de un fragmento de 75 pb de un GCU [gen de copia única ribosomal, *Ribosomal Protein Lateral Stalk Subunit P0*, RPLP0] y de las secuencias, teloméricas con primers específicos (RPLP0: Fw: 5'CAGCAAGTGGGAAGGTGT AATCC3'; Rv: 5'CCCATTCTATCATCAACGGGTACAA3'; telómero: Fw 5'CGGTT TGTTGGGTTGGGTTGGGTTGGGTTGGGTT3'; Rv: 5'GGCTTGCCTTACCC TTACCCTTACCCTTACCCTTACCCT3'). Ambas PCR se realizaron en un volumen final de 20 μl que contenía 20 ng de DNA, 1X SYBR™ Green Master Mix y 250 nM de primers para RPLP0 o 100 nM para la reacción de telómeros. Las condiciones de PCR fueron: 10 min a 95°C, seguidos por 45 ciclos de 15 segundos a 95°C y 1 min a 60°C. La curva de *melting* se realizó con 1 ciclo de 20 segundos a 95°C, 15 segundos a 50°C y 98°C con una rampa de temperatura de 0,3°C/seg. Cada muestra se analizó por duplicado y, en todos los ciclados, se incluyeron estándares de concentración conocida y un control negativo, sin templado, en el que el ADN fue sustituido por agua. Se construyeron curvas de calibración para ambas secuencias a analizar, utilizando cinco diluciones seriadas de oligonucleótidos sintetizados que contienen las repeticiones TTAGGG para las secuencias teloméricas y un oligómero que contiene el producto de

RPLP0 para el GCU. Ambas curvas se pusieron a punto hasta obtener una misma eficiencia de la reacción, entre un 90 y 110 %. Para cada muestra en estudio, a partir de la curva de oligonucleótidos de repeticiones TTAGGG, se obtuvo el valor de Kpb/reacción y de la curva del GCU, el número de copias del genoma diploide/reacción. El valor de Kpb/reacción se dividió por el número de copias del genoma (diploide)/reacción para calcular la LTLa en Kpb por genoma diploide humano (relación T/S).

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con SPSS Statistics 20.0. Un valor de p inferior a 0,05 fue considerado estadísticamente significativo. La distribución normal de los datos se evaluó mediante la prueba de Shapiro - Wilk. Las comparaciones de las características bioquímicas y clínicas y de la LTLa se realizaron por ANOVA de una vía, seguido de la prueba *post hoc* de Bonferroni para múltiples factores o grupos y prueba T para muestras relacionadas. Un análisis univariado de ajuste de covarianza (ANCOVA) o regresión lineal múltiple y estudio de variables ficticias permitirá el ajuste por variables confundidoras. La asociación entre LTLa y variables cuantitativas se analizó mediante análisis de correlación parcial. Se utilizó test t para la comparación de datos pareados con el fin de analizar las variaciones en las características bioquímico-clínicas y en la LTLa luego de las intervenciones en individuos con obesidad y DT2.

Resultados

Estudio transversal. Regresión de la LTLa con la edad

Estudio transversal. Caracterización de la población

La población estudiada involucró a 250 individuos: 84 mujeres y 149 hombres (36,1 % y 64,9 %, respectivamente) y una edad media de 43 ± 14 años. El 35,9 % (n = 84) de la población no presentó SM y era normopeso (grupo NPO); 26,5 % (n = 62) de los individuos era metabólicamente sano y presentaba obesidad (grupo OMS) y el 37,6 % (n = 88) presentaba SM y obesidad (grupo OSM). La caracterización bioquímica, clínica y antropométrica de cada grupo se puede observar en la Tabla I.

Estudio transversal. Determinación de la LTLa

La LTLa media fue de 12,40 ± 6,30 kpb para el grupo NPO; de 8,72 ± 4,73 Kpb para el grupo OMS y 9,17 ± 5,22 kpb para los individuos OSM. La LTLa media para el grupo NPO difiere significativamente de la de los grupos OMS y OSM (p < 0,001 en ambos casos). Al analizar el efecto que ejercen los factores de riesgo cardiometabólicos sobre la LTLa, se encontró una asociación significativa entre el mayor número de componentes SM y la menor LTLa (p < 0,001; R² = 0,06, B = -1,275; IC 95% B = -1,926/-0,624), que resistió el ajuste por los factores de edad y sexo (p = 0,004). El estudio *post hoc* mostró diferencias en particular entre los grupos 0 vs. 1 (p = 0,008); 0 vs. 2 (p = 0,001) y 0 vs. SM (p < 0,001). De esta manera, una menor LTLa se asoció a un mayor número de componentes

Figura 1. Longitud telomérica leucocitaria absoluta (LTLa) en función de la edad para la población general. Línea de regresión lineal.

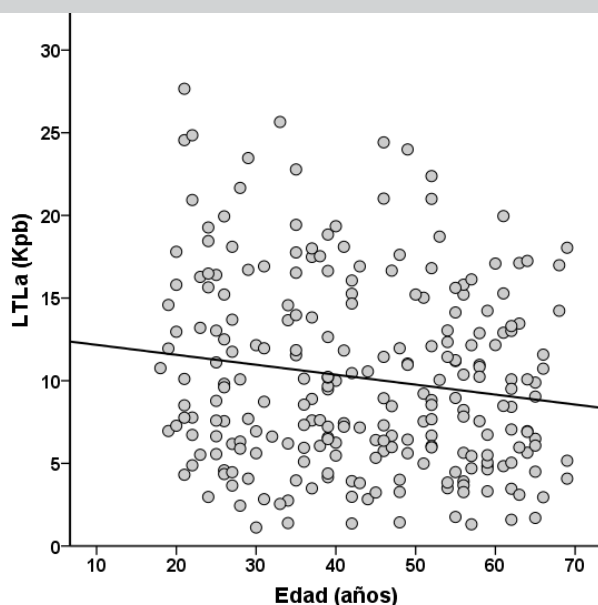


Tabla II. Características bioquímicas, clínicas y antropométricas de los grupos pre y posintervención.

	Preintervención	Posintervención
	Media \pm DS	Media \pm DS
Peso (kg)	93,25 \pm 19,71a	91,37 \pm 19,73b
IMC (kg m ⁻²)	33,76 \pm 5,30a	33,10 \pm 5,33b
CC (cm)	106,67 \pm 15,74a	104,62 \pm 12,74a
HbA1c (%)	9,81 \pm 1,94a	6,51 \pm 1,01b
GPA (mg dL ⁻¹)	198,16 \pm 89,11a	123,64 \pm 45,33b
CT (mg dL ⁻¹)	212,96 \pm 74,98a	207,08 \pm 50,46a
c-HDL (mg dL ⁻¹)	40,40 \pm 7,08a	42,32 \pm 9,62a
TG (mg dL ⁻¹)	197,67 \pm 129,96a	213,54 \pm 110,00a

► IMC, índice de masa corporal; CC, circunferencia de cintura; GPA, glucemia plasmática en ayunas; CT, colesterol total; LDL, colesterol de lipoproteínas de baja densidad; HDL, colesterol de lipoproteínas de alta densidad; TG, triglicéridos; HbA1c, hemoglobina glicosilada. Los valores de las variables para cada grupo que no comparten el mismo carácter son significativamente diferentes con una $p < 0,05$. Las variables se presentan como media \pm desviación típica (DS) para cada grupo.

del SM. La presencia de al menos un componente tuvo un impacto negativo sobre la LTLa. No encontramos una asociación significativa entre la LTLa y ninguno de los componentes del SM en particular ni con el IMC, el HOMA o la PCR.

Estudio longitudinal de pacientes con DT2. Caracterización de grupos pre y posintervención.

Se estudiaron 30 individuos con DT2, de los cuales 7 mujeres (26,9 %) y 19 hombres (73,1 %) completaron el protocolo de intervención, con una edad media de 49,35 \pm 12,55 años. Las determinaciones bioquímico - clínicas permitieron caracterizar a la población de estudio. Al comparar los grupos pre y posintervención, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los valores de HbA1c ($p < 0,001$) y glucemia ($p = 0,001$), lo cual demostró una correcta compensación metabólica de los pacientes luego del tratamiento farmacológico y los cambios en el estilo de vida (Tabla II). Además, se observó una disminución en el peso ($p = 0,039$) e IMC ($p = 0,030$). El resto de las variables bioquímico - clínicas analizadas no mostró cambios luego de la intervención.

Estudio longitudinal de pacientes con DT2. Determinación de la LTLa

Al evaluar comparativamente la LTLa de los pacientes en los diferentes momentos del estudio, se evidenció un comportamiento aleatorio: en algunos pacientes se observó una disminución de la LTLa luego del tratamiento, en otros se mantuvo y en otros hubo un aumento de la LTLa (Figura 2). Las variaciones en la LTLa no se asociaron al tiempo de tratamiento ni al nivel de compensación metabólica evaluada por la glucemia y la HbA1c. Tampoco se encontró una asociación entre la LTLa de cada momento del tratamiento

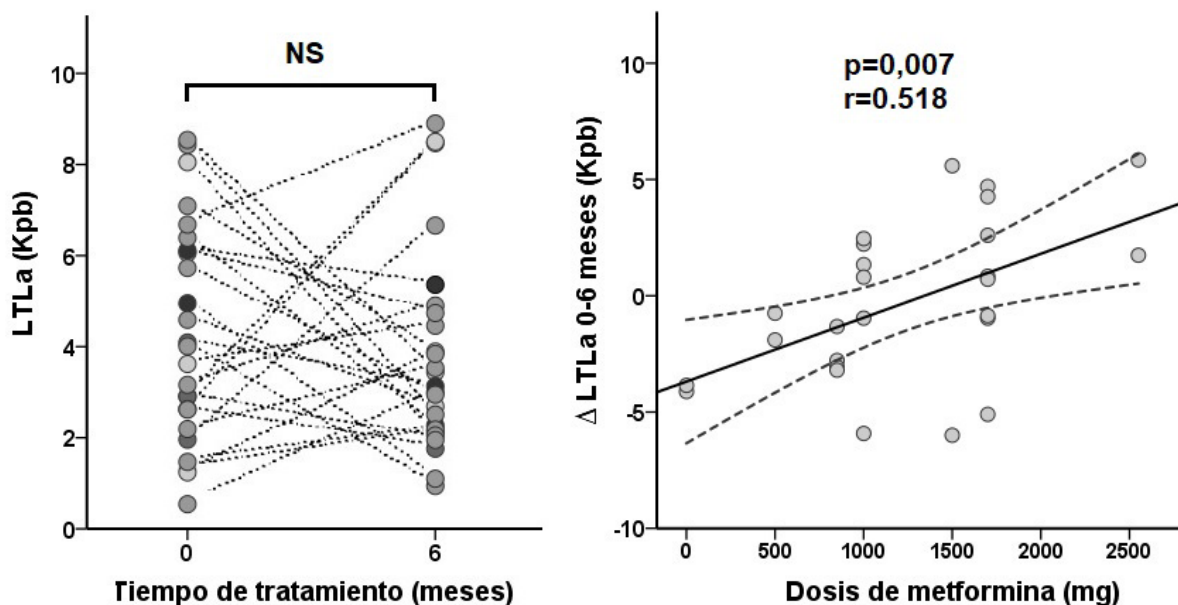
con ninguna de las variables bioquímico - clínicas analizadas. En cambio, se halló una asociación positiva, significativa entre la variación de la LTLa luego del tratamiento y la dosis de metformina empleada ($p = 0,007$; $R = 0,518$; $B = 0,003$; $IC95\% B = 0,001/0,005$), ya que los individuos que recibieron las mayores dosis de metformina mostraron un aumento en la LTLa.

Estudio longitudinal de pacientes con obesidad. Caracterización de la población

La población total consistió en 22 personas, de las cuales el 54,5 % fueron mujeres ($n = 12$) y el 45,5 %, hombres ($n = 10$), con una edad media de 52,91 \pm 6,16 años (rango = 41 - 63 años). El abordaje quirúrgico fue por BGYR en el 72,7 % de los casos ($n = 16$) y por gastrectomía en manga en el 27,3 % ($n = 6$). En la Tabla III, se muestran las características bioquímico - clínicas y antropométricas de la población en los dos momentos del estudio. Luego de la cirugía bariátrica, se observó una disminución del peso y de los parámetros relacionados con la masa corporal (IMC, nivel de grasa visceral, circunferencia de cintura, contenido de grasa, masa libre de grasa y masa de músculo esquelético). Además, se observó una mejora en los niveles de TG, glucemia y HbA1c. También hubo un aumento significativo en la insulino-sensibilidad demostrado por un descenso del HOMA y una disminución significativa en el nivel de inflamación medido por la PCR-us al mes de la cirugía.

Estudio longitudinal de pacientes con obesidad. Determinación de la LTLa

Se observó una LTLa media significativamente aumentada a los 6 meses de la cirugía en comparación con los niveles basales prequirúrgicos (3,45 \pm 1,26 Kpb vs. 5,07 \pm 3,10 Kpb, p

Figura 2. Variación de la LTLa en función del tiempo de tratamiento y la dosis de metformina.

► Análisis estadístico: comparación de medias por test T para muestras relacionadas; los círculos representan la LTLa de cada individuo a tiempo 0 y 6 meses, unidos mediante líneas punteadas. Por regresión lineal, con la media (línea entera) y los intervalos de confianza para la media (línea punteada), se evaluó la asociación entre la variación de la LTLa y la metformina, a los 6 meses de tratamiento, en función de la dosis.

= 0,013]. No se encontró ninguna correlación significativa entre la variación de la LTLa y la ausencia de cambio en las variables bioquímico-clínicas y antropométricas analizadas, así como tampoco, cambios debidos a la presencia de DT2.

Por otro lado, al subdividir a los pacientes por la presencia de obesidad u obesidad mórbida, los pacientes obesos mórbidos, a los 6 meses de la cirugía, presentaron un aumento de la LTLa [$3,47 \pm 1,47$ Kpb a $5,23 \pm 2,86$ Kpb, $p = 0,022$], un menor nivel de inflamación medida por PCR us ($p = 0,005$) y un menor IMC ($p < 0,001$). Los pacientes obesos, por otro lado, si bien disminuyeron significativamente el IMC ($p < 0,001$), no presentaron cambios significativos en la LTLa [$3,43 \pm 0,85$ Kpb a $4,78 \pm 3,66$ Kpb $p = 0,287$] ni en los niveles de inflamación ($p = 0,966$). Analizando las variables bioquímicas, clínicas y antropométricas, observamos que los obesos mórbidos que presentaron mayores aumentos en la LTLa son aquellos que mostraron mayores descensos en la PCR como marcador de inflamación ($r = -0,570$; $p = 0,024$) (Figura 3).

Discusión

El SM refiere a una agrupación de factores de riesgo cardiometabólicos que aumenta de 2 a 3 veces el riesgo de desarrollar ECV y 5 veces DT2²⁰. Siguiendo los criterios del III Panel de Tratamiento para Adultos (ATP III) del Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol (NCEP), se puede identificar de manera precisa y temprana a los individuos con alto riesgo de desarrollar SM y, por lo tanto, se podrían llevar a cabo estrategias para la prevención del desarrollo de dichas enfermedades.

Si bien se usan marcadores biológicos para medir el estado metabólico de un individuo en el momento de la toma de la muestra, utilizamos la LTLa como biomarcador, ya que refleja la carga acumulada del estrés oxidativo y la inflamación que se producen durante el curso de la vida, es decir, la historia metabólica del paciente como precursora de las enfermedades relacionadas con el envejecimiento. Con el aumento de la edad, se ha descrito una pérdida lenta y gradual de la LTLa^{38,39} como resultado de la incapacidad de la ADN polimerasa de replicar completamente los extremos cromosómicos con cada división celular^{40,7}. Al analizar la relación entre la LTLa y la edad de los pacientes, encontramos una asociación inversa ($p = 0,006$): los individuos de edades más avanzadas presentaron LTLa más cortas que los individuos más jóvenes. Consistente con nuestros resultados, un estudio sistemático, que incluyó 124 estudios transversales y 5 longitudinales, analizó la asociación de edad con LTLa en leucocitos de individuos adultos y demostró una correlación negativa⁴¹.

Además de relacionarse con el envejecimiento fisiológico, el acortamiento telomérico en sangre periférica se ha descrito en pacientes con cáncer^{42,43}, pacientes diabéticos⁴⁴⁻⁴⁸ y en individuos con SM y se relacionó con el aumento de los factores de riesgo de ECV⁴⁹ como el aumento de la presión arterial⁵⁰, los altos niveles de glucosa en ayunas^{46,47}, obesidad y tabaquismo¹⁴. Teniendo en cuenta estas referencias, nuestro objetivo fue analizar la asociación entre la LTLa, las variables bioquímico-clínicas y los componentes del SM, dado que el acortamiento de los telómeros es un reflejo del estrés oxidativo crónico al que se ven sometidas las células de los

Tabla III. Características bioquímicas, clínicas y antropométricas de los grupos pre y posintervención.

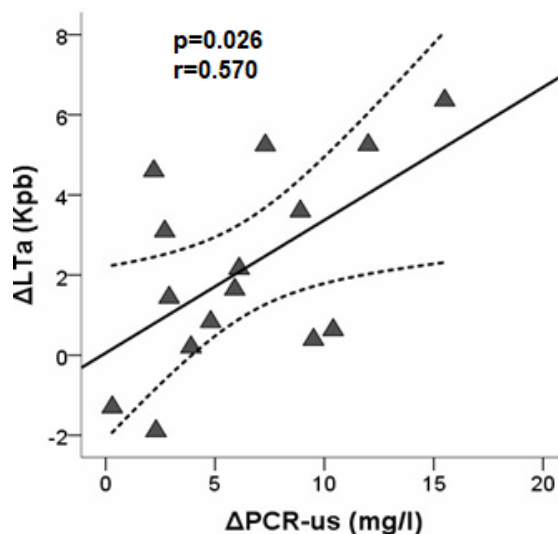
	Preintervención	Posintervención
	Media \pm DS	Media \pm DS
Peso (kg)	120,32 \pm 22,76a	88,95 \pm 14,86b
IMC (kg m ⁻²)	42,68 \pm 5,26a	31,66 \pm 3,69b
CC (cm)	125,68 \pm 16,17a	102,26 \pm 13,80a
HbA1c (%)	6,62 \pm 1,56a	5,68 \pm 0,72b
GPA (mg dL ⁻¹)	121,06 \pm 39,71a	94,23 \pm 45,33b
CT (mg dL ⁻¹)	185,81 \pm 32,23a	182,77 \pm 40,37a
c-HDL (mg dL ⁻¹)	47,10 \pm 9,41a	49,93 \pm 10,03b
c-LDL (mg dL ⁻¹)	99,30 \pm 32,43a	111,43 \pm 34,16a
TG (mg dL ⁻¹)	174,36 \pm 76,21a	107,14 \pm 41,70b
PCR-us (mg L ⁻¹)	7,14 \pm 5,15a	3,27 \pm 4,05b

► Las variables se presentan como media \pm desviación típica (DS) para cada grupo. IMC: índice de masa corporal; CC, circunferencia de cintura; GPA, glucemia plasmática en ayunas; CT, colesterol total; LDL, colesterol de lipoproteínas de baja densidad; HDL, colesterol de lipoproteínas de alta densidad; TG, triglicéridos; HbA1c, hemoglobina glicosilada; PCR-us, proteína C reactiva ultrasensible. Los valores de las variables para cada grupo que no comparten el mismo carácter son significativamente diferentes en $p < 0,05$.

pacientes con el aumento de los factores de riesgo. Encontramos una asociación significativa entre el mayor número de componentes del SM y la menor LTLa ($p < 0,001$; $R^2 = 0,06$, $B = -1,275$; IC 95% $B = -1,926/-0,624$). El grupo de individuos sin ningún componente del SM (grupo 0) presentó diferencias en la LTLa con respecto al grupo 1 ($p = 0,008$), al grupo 2 ($p = 0,001$) y al grupo SM ($p < 0,001$), con lo cual inferimos que la presencia de al menos uno de los componentes asociados al SM ejerce una influencia negativa sobre la homeostasis de los telómeros. Debido a que el SM, con frecuencia, progresa y culmina en el desarrollo de la DT2, el objetivo siguiente fue analizar la LTLa en pacientes con DT2 de reciente diagnóstico, a través de un estudio prospectivo controlado, para ver su posible acción sobre el acortamiento telomérico observado en dichos pacientes. En 2005, se estableció la asociación entre LT en células blancas circulantes y la presencia de DT2⁵¹; en ella la LT en leucocitos de pacientes diabéticos es significativamente menor que en los controles sanos, en parte por la mayor susceptibilidad al daño oxidativo del ADN en estos pacientes⁴⁵.

Por otro lado, un estudio mostró una disminución del 50 % en el SM y la DT2 con solo 3 semanas de un tratamiento que consistió en una intensa modificación del estilo de vida mediante dieta y actividad física⁵². De acuerdo con lo comentado, pensamos que la mejora en alguno de los componentes del SM a través de tratamientos farmacológicos o medidas higiénico-dietéticas, que mejoran la compensación metabólica de los pacientes, se puede ver reflejada en la LTLa.

Los resultados de este estudio indican que los 30 pacientes pudieron ser compensados metabólicamente, lo que re-

Figura 3. Variación de la LTLa en función de la variación de los niveles de PCR-us.

► Por regresión lineal, con la media (línea entera) y los intervalos de confianza para la media (línea punteada), se evaluó la asociación entre la variación de la LTLa a los 6 meses de tratamiento en función de la variación de PCR-us. $R =$ coeficiente de correlación de Pearson y significancia con valores de estadístico $p < 0,05$.

sultó en una disminución estadísticamente significativa en los valores de HbA1c ($p < 0,001$) y glucemia ($p = 0,001$) entre los grupos pre y pos-intervención. Al evaluar comparativamente la LTLa entre los individuos en los diferentes momentos del estudio, observamos un comportamiento aleatorio de la LTLa, que no se asoció a ninguna variable bioquímico - clínica ni a la compensación metabólica evaluada por glucemia y HbA1c ni al tiempo de tratamiento. En un trabajo reciente de seguimiento a 6 años, fueron estudiados 3.600 pacientes, de los cuales el 44 % presentó un acortamiento en la LTLa; en el 22 %, esta se mantuvo estable y se alargó en el 34 % de los individuos estudiados⁵³⁻⁵⁴. Nuestros datos también apoyan la noción de un patrón dinámico que incluye acortamiento y alargamiento de la LT a lo largo del tiempo. El mecanismo para esta LT oscilante de la reserva de leucocitos en circulación no está claro, pero puede deberse a diferencias en las fracciones celulares o a verdaderos efectos biológicos, tales como la activación de la telomerasa transitoria^{55,56}. Por otro lado, uno de los principales hallazgos de nuestro estudio fue la asociación positiva, significativa entre la variación de la LTLa, luego del tratamiento, y la dosis de metformina empleada ($p = 0,007$). Hay evidencia de que el uso de metformina, que es la principal droga utilizada para el tratamiento de la DT2, está relacionada con la disminución del estrés oxidativo en la célula, demostrado por la disminución en la concentración de las especies reactivas del oxígeno ROS⁵⁷, con lo cual, concluimos que la metformina podría tener un efecto positivo en los pacientes con DT2, que puede trasladarse a los telómeros. Se puede decir que nuestros resultados apoyan las evidencias de la metformina como fármaco con características geroterapéuticas debido a su acción antiinflamatoria directa, más allá de ser un agente hipoglucemiante^{58,59}.

Por último, se observó que la longitud de los telómeros aumenta en los pacientes sometidos a cirugía bariátrica, lo cual se debe, probablemente, al mejoramiento del estado metabólico y la disminución del estado de inflamación. Al estudiar si una disminución significativa de los niveles de inflamación podría mejorar la LTLa, subdividiendo a los pacientes en obesos y obesos mórbidos, observamos que los pacientes obesos mórbidos, a los 6 meses de la cirugía, presentaron un aumento significativo de la LTLa y una disminución significativa de los niveles de inflamación, mientras que los pacientes obesos no presentaron cambios.

Se concluye que, aunque los mecanismos que subyacen al desarrollo del SM son complejos, el estrés oxidativo y la inflamación pueden desempeñar un papel crucial en este proceso y podrían contribuir al acortamiento acelerado de los telómeros. En este trabajo, pudimos evidenciar que la presencia de uno o más factores de riesgo característicos del SM se asocian con una menor LTLa, la cual es todavía menor en el grupo de pacientes con SM. En este sentido, cabe destacar la importancia de contar con una adecuada identificación clínica, bioquímica y genético - molecular en los individuos OMS o incluso en los individuos sanos, donde la longitud telomérica alterada para su edad se constituiría en un buen marcador del

estado metabólico y serviría para individualizar pacientes a intervenir en forma temprana. A través de los resultados del presente trabajo, se contribuye al conocimiento de las bases moleculares que definen una forma de presentación clínica o fenotipo específico de obesidad, como es la que se presenta en individuos obesos sin el desarrollo de las alteraciones metabólicas características del SM, los denominados *obesos metabólicamente sanos*. En ese sentido, medidas de intervención como la cirugía bariátrica, de alto costo para el sistema de salud, que tiene un impacto relevante en la obesidad mórbida y en obesos con SM, podrían ser replanteadas para pacientes OMS, los que presentan una menor evolución hacia la diabetes tipo 2 y la enfermedad cardiovascular. Así se produce una contribución concreta al sistema de salud, ya que este fenotipo de obesidad no se estaría beneficiando con una intervención tan compleja y costosa y se vería beneficiado con medidas de intervención más simples en cuanto al estilo de vida como la dietoterapia y la actividad física.

Por otro lado, la LTLa debe ser entendida como una variable dinámica, que depende, entre otras cosas, de las condiciones del estilo de vida y del estado metabólico, y que, particularmente a través de los estudios de intervención, redundaría en beneficios más sostenibles a mediano y largo plazo no solo en el nivel de las características antropométricas de los pacientes afectados, sino también en el estado de inflamación subclínica, con la consecuente disminución del estrés oxidativo, reflejado, en este caso, en un aumento del tamaño telomérico. Se desprende la necesidad de mantener un adecuado control, dentro de las metas establecidas, de los diferentes parámetros metabólicos (lípidos, glucemia, estado oxidativo, inflamación, etc.) mediante diferentes medidas de intervención, ya sea con cambios en el estilo de vida o con drogas, más allá del peso, para mejorar el impacto en la función celular, del cual el telómero se constituye en un marcador fundamental.

Los hallazgos obtenidos a partir de este trabajo podrían influir positivamente en la predicción, prevención y el tratamiento de la obesidad y diabetes. Las medidas de intervención que tengan en cuenta los factores inflamatorios, de estrés oxidativo e IR y, en un futuro cercano, las intervenciones de tipo farmacológico personalizado a partir de la caracterización genética - epigenética - marcadores de inflamación y de respuesta al ambiente de cada paciente impactarán claramente en el diagnóstico y pronóstico del individuo con obesidad y las alteraciones metabólicas asociadas.

Referencias bibliográficas

1. Blackburn EH. Telomeres: no end in sight. *Cell*. 1994;77(5):621-3.
2. Meyne J, Ratliff RL, Moyzis RK. Conservation of the human telomere sequence (TTAGGG)_n among vertebrates. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989;86(18):7049-53.
3. Makarov VL, Hirose Y, Langmore JP. Long G tails at both ends of human chromosomes suggest a C strand degradation mechanism for telomere shortening. *Cell*. 1997;88(5):657-66.
4. Wright WE, Tesmer VM, Huffman KE, Levene SD, Shay JW. Normal human chromosomes have long G-rich telomeric overhangs at one end. *Genes Dev*. 1997;11(21):2801-9.

5. Griffith JD, Comeau L, Rosenfield S, Stansel RM, Bianchi A, Moss H, et al. Mammalian telomeres end in a large duplex loop. *Cell*. 1999;97(4):503-14.
6. Blackburn EH. Telomere states and cell fates. *Nature*. 2000;408(6808):53-6.
7. Olovnikov AM. A theory of marginotomy. The incomplete copying of template margin in enzymic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon. *J Theor Biol*. 1973;41(1):181-90.
8. Watson JD. Origin of concatemeric T7 DNA. *Nat New Biol*. 1972;239(94):197-201.
9. Mikhelson VM, Gamaley IA. Telomere shortening is a sole mechanism of aging in mammals. *Curr Aging Sci*. 2012;5(3):203-8.
10. von Zglinicki T, Martin-Ruiz CM. Telomeres as biomarkers for ageing and age-related diseases. *Curr Mol Med*. 2005;5(2):197-203.
11. Révész D, Milaneschi Y, Verhoeven JE, Penninx BW. Telomere length as a marker of cellular aging is associated with prevalence and progression of metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(12):4607-15.
12. Rode L, Nordestgaard BG, Bojesen SE. Peripheral blood leukocyte telomere length and mortality among 64,637 individuals from the general population. *J Natl Cancer Inst*. 2015;107(6):djv074.
13. Epel ES, Blackburn EH, Lin J, Dhabhar FS, Adler NE, Morrow JD, et al. Accelerated telomere shortening in response to life stress. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(49):17312-5.
14. Valdes AM, Andrew T, Gardner JP, Kimura M, Oelsner E, Cherkas LF, et al. Obesity, cigarette smoking, and telomere length in women. *Lancet*. 2005;366(9486):662-4.
15. Petersen S, Saretzki G, von Zglinicki T. Preferential accumulation of single-stranded regions in telomeres of human fibroblasts. *Exp Cell Res*. 1998;239(1):152-60.
16. Oikawa S, Kawanishi S. Site-specific DNA damage at GGG sequence by oxidative stress may accelerate telomere shortening. *FEBS Lett*. 1999;453(3):365-8.
17. Kawanishi S, Oikawa S. Mechanism of telomere shortening by oxidative stress. *Ann N Y Acad Sci*. 2004;1019:278-84.
18. O'Donovan A, Pantell MS, Puterman E, Dhabhar FS, Blackburn EH, Yaffe K, et al. Cumulative inflammatory load is associated with short leukocyte telomere length in the Health, Aging and Body Composition Study. *PLoS One*. 2011;6(5):e19687.
19. Lumeng CN, Saltiel AR. Inflammatory links between obesity and metabolic disease. *J Clin Invest*. 2011;121(6):2111-7.
20. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation*. 2005;112(17):2735-52.
21. Gallagher EJ, LeRoith D, Karnieli E. The metabolic syndrome--from insulin resistance to obesity and diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2008;37(3):559-79, vii.
22. Grundy SM. Obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(6):2595-600.
23. Obesidad y sobrepeso [Internet]. [www.who.int](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/). Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>
24. Encuesta Nacional 4ª de Factores de Riesgo Principales resultados. [Internet]. Available from: https://bancos.salud.gov.ar/sites/default/files/2020-01/4ta-encuesta-nacional-factores-riesgo_2019_principales-resultados.pdf
25. Arteaga A. El sobrepeso y la obesidad como un problema de salud. *Revista Médica Clínica Las Condes*. 2012;23(2):145-53.
26. de Sereeday MS, Gonzalez C, Giorgini D, De Loreda L, Braguinsky J, Cobeñas C, et al. Prevalence of diabetes, obesity, hypertension and hyperlipidemia in the central area of Argentina. *Diabetes Metab*. 2004;30(4):335-9.
27. Schargrodsky H, Hernández-Hernández R, Champagne BM, Silva H, Vinuesa R, Silva Aycaquer LC, et al; CARMELA Study Investigators. CARMELA: assessment of cardiovascular risk in seven Latin American cities. *Am J Med*. 2008;121(1):58-65.
28. Fiorentino TV, Prioleta A, Zuo P, Folli F. Hyperglycemia-induced oxidative stress and its role in diabetes mellitus related cardiovascular diseases. *Curr Pharm Des*. 2013;19(32):5695-703.
29. Green K, Brand MD, Murphy MP. Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. *Diabetes*. 2004;53 Suppl 1:S110-8.
30. Dudinskaya EN, Tkacheva ON, Shestakova MV, Brailova NV, Strazhesko ID, Akasheva DU, et al. Short telomere length is associated with arterial aging in patients with type 2 diabetes mellitus. *Endocr Connect*. 2015;4(3):136-43.
31. Gardner JP, Li S, Srinivasan SR, Chen W, Kimura M, Lu X, et al. Rise in insulin resistance is associated with escalated telomere attrition. *Circulation*. 2005;111(17):2171-7.
32. Murillo-Ortiz B, Albarrán-Tamayo F, Arenas-Aranda D, Benítez-Bribiesca L, Malacara-Hernández JM, Martínez-Garza S, et al. Telomere length and type 2 diabetes in males, a premature aging syndrome. *Aging Male*. 2012;15(1):54-8.
33. Iglesias Molli AE, Panero J, Dos Santos PC, González CD, Vilariño J, Sereeday M, et al. Metabolically healthy obese women have longer telomere length than obese women with metabolic syndrome. *PLoS One*. 2017;12(4):e0174945.
34. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*. 2002;106(25):3143-421. PMID: 12485966.
35. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. 2009;120(16):1640-5.
36. Murray MG, Thompson WF. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res*. 1980;8(19):4321-5.
37. O'Callaghan NJ, Fenech M. A quantitative PCR method for measuring absolute telomere length. *Biol Proced Online*. 2011;13:3.
38. Slagboom PE, Droog S, Boomsma DI. Genetic determination of telomere size in humans: a twin study of three age groups. *Am J Hum Genet*. 1994;55(5):876-82.
39. Tramer F, Caponecchia L, Sgrò P, Martinelli M, Sandri G, Panfili E, et al. Native specific activity of glutathione peroxidase (GPx-1), phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx) and glutathione reductase (GR) does not differ between normo- and hypomotile human sperm samples. *Int J Androl*. 2004;27(2):88-93.
40. Harley CB, Futcher AB, Greider CW. Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature*. 1990;345(6274):458-60.
41. Müezziner A, Zaineddin AK, Brenner H. A systematic review of leukocyte telomere length and age in adults. *Ageing Res Rev*. 2013;12(2):509-19.
42. Ju Z, Rudolph KL. Telomeres and telomerase in cancer stem cells. *Eur J Cancer*. 2006;42(9):1197-203.
43. Risques RA, Vaughan TL, Li X, Odze RD, Blount PL, Ayub K, et al. Leukocyte telomere length predicts cancer risk in Barrett's esophagus. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2007;16(12):2649-55.
44. Brouillette S, Singh RK, Thompson JR, Goodall AH, Samani NJ. White cell telomere length and risk of premature myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23(5):842-6.
45. Sampson MJ, Winterbone MS, Hughes JC, Dozio N, Hughes DA. Monocyte telomere shortening and oxidative DNA damage in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2006;29(2):283-9.
46. Adaikalakoteswari A, Balasubramanyam M, Ravikumar R, Deepa R, Mohan V. Association of telomere shortening with impaired glucose tolerance and diabetic macroangiopathy. *Atherosclerosis*. 2007;195(1):83-9.
47. Balasubramanyam M, Adaikalakoteswari A, Monickaraj SF, Mohan V. Telomere shortening & metabolic/vascular diseases. *Indian J Med Res*. 2007;125(3):441-50.
48. Mulder H. Is shortening of telomeres the missing link between aging and the Type 2 Diabetes epidemic? *Aging (Albany NY)*. 2010;2(10):634-6.

49. Samani NJ, Boultyby R, Butler R, Thompson JR, Goodall AH. Telomere shortening in atherosclerosis. *Lancet*. 2001;358(9280):472-3.
50. Jeanclos E, Schork NJ, Kyvik KO, Kimura M, Skurnick JH, Aviv A. Telomere length inversely correlates with pulse pressure and is highly familial. *Hypertension*. 2000;36(2):195-200
51. Adaikalakoteswari A, Balasubramanyam M, Mohan V. Telomere shortening occurs in Asian Indian Type 2 diabetic patients. *Diabet Med*. 2005;22(9):1151-6.
52. Roberts CK, Won D, Pruthi S, Kurtovic S, Sindhu RK, Vaziri ND, et al. Effect of a short-term diet and exercise intervention on oxidative stress, inflammation, MMP-9, and monocyte chemotactic activity in men with metabolic syndrome factors. *J Appl Physiol* (1985). 2006;100(5):1657-65.
53. Huzen J, Wong LS, van Veldhuisen DJ, Samani NJ, Zwinderman AH, Codd V, et al. Telomere length loss due to smoking and metabolic traits. *J Intern Med*. 2014;275(2):155-63.
54. Svenson U, Nordfjäll K, Baird D, Roger L, Osterman P, Hellenius ML, et al. Blood cell telomere length is a dynamic feature. *PLoS One*. 2011;6(6):e21485.
55. Lin J, Epel E, Cheon J, Kroenke C, Sinclair E, Bigos M, et al. Analyses and comparisons of telomerase activity and telomere length in human T and B cells: insights for epidemiology of telomere maintenance. *J Immunol Methods*. 2010;352(1-2):71-80.
56. Epel ES, Lin J, Dhabhar FS, Wolkowitz OM, Puterman E, Karan L, et al. Dynamics of telomerase activity in response to acute psychological stress. *Brain Behav Immun*. 2010;24(4):531-9.
57. de Kreutzenberg SV, Ceolotto G, Cattelan A, Pagnin E, Mazzucato M, Garagnani P, et al. Metformin improves putative longevity effectors in peripheral mononuclear cells from subjects with prediabetes. A randomized controlled trial. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2015;25(7):686-93.
58. Barzilai N, Crandall JP, Kritchevsky SB, Espeland MA. Metformin as a Tool to Target Aging. *Cell Metab*. 2016;23(6):1060-1065.
59. Saisho Y. Metformin and Inflammation: Its Potential Beyond Glucose-lowering Effect. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2015;15(3):196-205.

ARTÍCULO ORIGINAL

Utilidad de la medición de actividad de ADAMTS13 a propósito de un caso de púrpura trombocitopénica trombótica en pediatría

Usefulness of the measurement of ADAMTS13 activity regarding a case of thrombotic thrombocytopenic purpura in a pediatric patient

Marcone, María Inés^{1*}; Colitto, Laura¹; Ottobre, Macarena¹; Nosetti, Agustina¹; Osta Viviana¹

¹División Laboratorio Central, Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

*Contacto: Marcone, María Inés. Sección Hemocitología, División Laboratorio Central, Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez; inesmarcoone2016@gmail.com

Resumen

Introducción: La púrpura trombocitopénica trombótica está relacionada con la deficiencia de la metaloproteasa ADAMTS13. Si bien su incidencia en pediatría es baja, constituye una urgencia hematológica. Se encuentra incluida dentro de las microangiopatías trombóticas, síndromes caracterizados por la presencia de anemia hemolítica microangiopática con presencia de esquistocitos, trombocitopenia por consumo y daño orgánico. La deficiencia funcional severa de ADAMTS13 resulta en la acumulación de multímeros ultralargos del factor von Willebrand, de características protrombóticas. **Paciente y métodos:** Se presenta el caso de una paciente de 15 años de edad, previamente sana, que consulta por síntomas neurológicos, vómitos y cansancio. Sus antecedentes clínicos no incluían desórdenes hematológicos. Se detectó una marcada anemia con presencia de esquistocitos, compatible con una anemia hemolítica microangiopática. Las pruebas de coagulación fueron normales. Los estudios serológicos virales y cultivos bacteriológicos fueron negativos. Debido a la presencia de síntomas neurológicos, función renal conservada, plaquetopenia y presencia de esquistocitos, se sospechó una púrpura trombocitopénica trombótica. Se solicitó dosaje de ADAMTS13 y luego, comenzó el tratamiento. La actividad de ADAMTS13 resultó menor de 10 UI/dl, y el estudio de la presencia de inhibidor, positivo para anticuerpos de isotipo IgG. Esto permitió confirmar el diagnóstico de púrpura trombocitopénica trombótica inmune. **Conclusión:** La sospecha clínica de una púrpura trombocitopénica trombótica en pacientes pediátricos y la medida de actividad de ADAMTS13 son fundamentales para intentar establecer la etiología de las microangiopatías trombóticas e instaurar un tratamiento eficaz y oportuno. El retraso en el tratamiento podría resultar en un mayor daño orgánico y aumento de la mortalidad.

Palabras clave: ADAMTS13, púrpura trombocitopénica trombótica, microangiopatía trombótica, multímeros ultralargos de factor von Willebrand.

Abstract

Introduction: Thrombotic thrombocytopenic purpura is related to ADAMTS13 metalloprotease deficiency. Although its incidence in pediatric patients is low, it constitutes a hematological emergency. Thrombotic microangiopathies include syndromes characterized by the presence of microangiopathic hemolytic anemia with the presence of schistocytes, thrombocytopenia from consumption, and organ damage. Severe functional deficiency of ADAMTS13 results in the accumulation of ultra-large multimers of von Willebrand factor with prothrombotic features. **Patient and methods:** The case of a previously healthy 15-year-old patient who consulted for neurological symptoms, vomiting, and fatigue is presented. Her clinical history did not show hematological abnormalities. Marked anemia with the presence of schistocytes compatible with microangiopathic hemolytic anemia was detected. Coagulation tests were normal. Viral serological studies and bacteriological cultures were negative. Due to the presence of neurological symptoms, preserved renal function, thrombocytopenia, and the presence of schistocytes, thrombotic thrombocytopenic purpura was suspected. ADAMTS13 dosage was requested and treatment was started. ADAMTS13 activity was less than 10% and the study of the presence of inhibitor was positive for IgG antibodies. This allowed confirming the diagnosis of immune thrombotic thrombocytopenic purpura. **Conclusion:** Clinical suspicion of thrombotic thrombocytopenic purpura in pediatric patients and measurement of ADAMTS13 activity are essential to establish the etiology of thrombotic microangiopathies and an effective and timely treatment. A delay in the treatment could result in further organ damage and increased mortality.

Keywords: ADAMTS13, thrombotic thrombocytopenic purpura, thrombotic microangiopathy, ultralarge multimers of von Willebrand factor.

Introducción

La metaloproteasa ADAMTS13 está directamente relacionada con la fisiopatogenia de la púrpura trombocitopénica trombótica (PTT), enfermedad rara y potencialmente fatal, con una incidencia que varía de 2 a 6 casos por millón de individuos, según la región¹. Si bien su incidencia en la población pediátrica es muy baja -menos de 1 caso por millón de niños por año²- constituye una urgencia hematológica. Por este motivo, la sospecha clínica en pacientes pediátricos resulta fundamental para el correcto abordaje diagnóstico.

La PTT es una de las microangiopatías trombóticas (MAT), que se definen como síndromes que incluyen la presencia de anemia hemolítica microangiopática no inmune, generalmente con presencia de esquistocitos en el frotis de sangre periférica, trombocitopenia por consumo y daño orgánico de afectación e intensidad variable relacionado con la presencia de trombos en la microcirculación.³ Las entidades que cursan con MAT son diversas: en la población pediátrica, se incluyen el síndrome urémico hemolítico (SUH) asociado a infección por *Escherichia coli* productora de toxina Shiga, con afección predominantemente renal; el SUH asociado a alteraciones genéticas o adquiridas en la vía alterna del sistema de complemento (SUH atípico) y la PTT como causas primarias.⁴ La PTT en la población pediátrica representa menos del 10 % de todos los casos de PTT reportados.⁵ La fisiopatología de esta enfermedad se basa en la deficiencia funcional severa de la metaloproteasa ADAMTS13 (*a disintegrin-like and metalloprotease with thrombospondin type 1 motif, member 13*). Esta desintegrina y metaloproteasa plasmática participa en la regulación del factor de von Willebrand (FVW), su sustrato principal. Su síntesis es principalmente hepática y su vida media, de 2 a 3 días.⁶ Un 3-5 % de esta metaloproteasa circula unida al FVW.⁷ La actividad enzimática de ADAMTS13 implica su interacción con los multímeros ultralargos del FVW (ULFVW, *ultra large von Willebrand factor*) del endotelio vascular, que produce un clivaje entre Tyr1605-Met1606.^{8,9} En condiciones de alto flujo o luego de la formación de un trombo, los ULFVW exponen este sitio de clivaje, denominado A2, que se vuelve accesible al ataque de ADAMTS13. Como resultado, se obtienen fragmentos cada vez más pequeños del FVW, y se modula la longitud de los multímeros de FVW en la circulación.¹⁰

La deficiencia de ADAMTS13 resulta en la acumulación de multímeros ULFVW de características protrombóticas. En ausencia de la enzima, la sola presencia de ULFVW, en condiciones de flujo normal, no debería causar trombosis microvascular, sin embargo, en condiciones de alto flujo, aumenta la adhesividad plaquetaria sobre los multímeros, lo que resulta en la formación de microtrombos que causan patología micro/macrovacular oclusiva e isquemia tisular con fragmentación de glóbulos rojos, aumento de LDH y consumo de plaquetas.^{5,11,12} Esto es especialmente importante en neonatos con PTT congénita, en los cuales

el inicio bidireccional de la circulación a través del conducto arterioso causa condiciones de turbulencia extrema y puede originar hemólisis severa.^{13,14}

La deficiencia de la metaloproteasa puede ser de origen genético (síndrome de Upshaw - Schulman, cPTT) o inmunomediada (adquirida, iPTT), en la que típicamente se encuentran presentes anticuerpos dirigidos contra ADAMTS13.¹⁵ La cPTT, de penetrancia variable y con más de 200 mutaciones descritas¹⁶, se manifiesta más frecuentemente en bebés y niños pequeños, mientras que la iPTT prevalece en niños mayores (preadolescentes y adolescentes).¹⁷ Para el diagnóstico de cPTT, se requiere confirmación con estudios genéticos (mutaciones bialélicas, en su mayoría).³ En cuanto a la iPTT en niños, existen características compartidas con la población adulta como la coexistencia de otros desórdenes autoinmunes y la mayor prevalencia en el sexo femenino. De acuerdo con lo reportado, el 75 % de las iPTT se da en mujeres; el 21 % de todos los pacientes con iPTT tiene uno o más desórdenes autoinmunes y el 11 % presenta lupus eritematoso sistémico.¹⁸

La medida de actividad de ADAMTS13 es el primer test que debería realizarse en pacientes con sospecha o diagnóstico de MAT.¹⁹ La deficiencia severa de la actividad de la metaloproteasa, definida generalmente como una actividad menor del 10 % con respecto a un pool de plasma normal, confirma el diagnóstico de PTT.²⁰ Sin embargo, una actividad de ADAMTS13 mayor del 10 % no debería excluir el diagnóstico de PTT, sobre todo con valores de actividad enzimática entre 10 y 20 %. El diagnóstico de PTT requiere tanto de la medida de actividad de ADAMTS13 como de su interpretación en el contexto clínico del paciente realizadas por equipo multidisciplinario.^{1,21} Por otra parte, la medida de actividad de la metaloproteasa juega un rol importante en el seguimiento de esta patología.

El tratamiento de la iPTT suele incluir recambio plasmático intensivo combinado con inmunosupresores, corticoides y rituximab o caplacizumab.^{22,23}

Estructura de la ADAMTS13

Al igual que otros miembros de la familia ADAMTS, ADAMTS13 está compuesta por 14 dominios: metaloproteasa, desintegrina, primera repetición de trombospondina (TSP1), dominio rico en cisteína y dominios espaciadores. La porción distal de la proteasa contiene 7 repeticiones de TSP1 adicionales y 2 dominios CUB (*complement subcomponents C1r/C1s, embryonic sea urchin protein EGF, bone morphogenic protein-1*). Cada dominio tiene un rol específico en relación con la actividad enzimática²⁴. Si bien ADAMTS13 es secretada como enzima activa, circula en una conformación cerrada debido a la interacción entre los dominios CUB y espaciadores.² Cuando el ULFVW se une a ADAMTS13, la enzima experimenta un cambio conformacional y se vuelve activa. Estos cambios en la conformación resultan fundamentales para sostener el FVW en estricto control de sus diferentes formas moleculares a fin de mantener la homeostasis microvascular.^{26,27}

Métodos de medición de la actividad de ADAMTS13

Se encuentran disponibles en el mercado una variedad de ensayos para la medida de actividad enzimática, la detección antigénica y la determinación del inhibidor o de los anticuerpos anti-ADAMTS13. Estos ensayos pueden ser del tipo *in house*, comerciales y, más recientemente, automatizados.

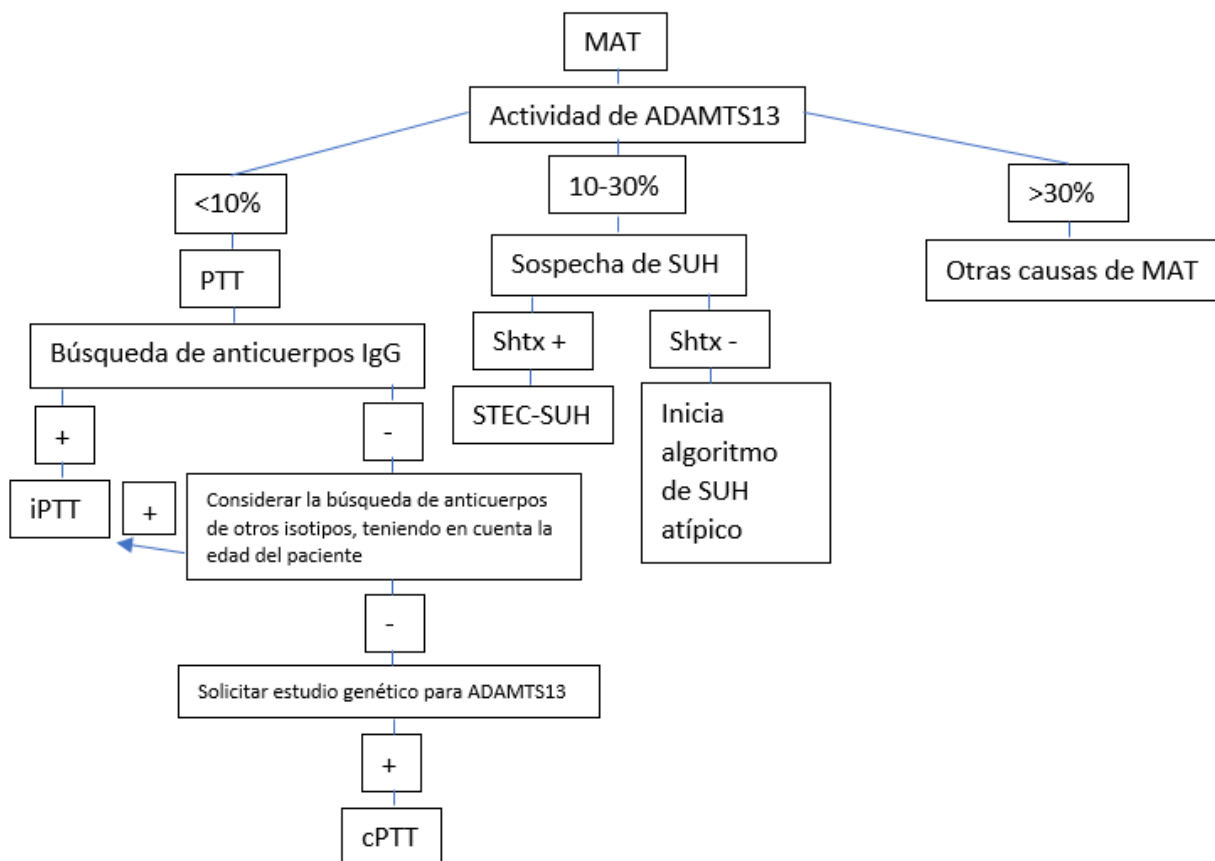
La muestra de elección es el plasma citratado. Luego del proceso de doble centrifugación, las muestras de plasma que no sean procesadas en el día deben congelarse a -40°C y mantenerse congeladas hasta el momento de la determinación. Ante la sospecha de PTT, se recomienda tomar una muestra previa al inicio del tratamiento.^{28,29}

Los ensayos más utilizados son del tipo de transferencia de energía fluorescente por resonancia (TEFR) y ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*) cromogénico con detección de punto final. Se basan en la determinación de la actividad enzimática a través del uso de fragmentos peptídicos recombinantes de 73 aminoácidos del FVW que contienen el sitio de clivaje A2 (FVW73).³⁰⁻³³ Si los controles y calibradores poseen valores establecidos utilizando el calibrador aprobado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) [estándar internacional ADAMTS13 PLASMA 12/252],

los resultados pueden informarse en UI/dl, unidades que son equivalentes al porcentaje de actividad de ADAMTS13³⁴. Pese a las discrepancias observadas entre los métodos basados en TEFR y los ELISA cromogénicos, existe buena correlación entre ensayos y alta concordancia en la clasificación de muestras con actividad menor de 10 UI/dl.¹⁵ Recientemente, se han desarrollado métodos totalmente automatizados que permiten obtener resultados en 30 minutos. Uno de ellos, el HemosIL® AcuStar ADAMTS13 Activity³⁵, ya disponible en Argentina, utiliza la tecnología de quimioluminiscencia para la determinación de la actividad enzimática. Por otra parte, el Technofluor ADAMTS13 Act. *Technoclone Herstellung von Diagnostika und Arzneimitteln GmbH*, aún no disponible en el país, utiliza la tecnología TEFR.^{36,37}

Cada método posee intervalos de referencia establecidos, que generalmente son obtenidos en población adulta, por lo que su uso en pediatría es limitado.¹⁵ En estos casos, se recomienda establecer intervalos de referencia propios, ajustados por edad. Sin embargo, las recomendaciones internacionales en cuanto al valor crítico de actividad por debajo del 10 % no establecen diferencias entre población adulta y pediátrica para realizar el diagnóstico de PTT.

Figura 1. Algoritmo diagnóstico propuesto para el diagnóstico de las microangiopatías trombóticas (MAT).



► MAT, microangiopatías trombóticas; PTT, púrpura trombocitopénica trombótica; SUH, síndrome urémico hemolítico; Shtx, shigatoxina; iPTT, PTT inmune; cPTT, PTT congénita, STEC, Escherichia coli productora de toxina Shiga.

Se encuentran desarrollados dispositivos del tipo *point of care* que permiten la obtención de la medida de actividad enzimática en un corto plazo (30 minutos), aunque su utilidad es limitada debido a que, si bien muestran buen desempeño general, una disminución en la actividad requiere confirmación por el método tradicional utilizado en el laboratorio de referencia.³⁸

Determinación antigénica de ADAMTS13

Este tipo de ensayo cuantifica la cantidad de proteína presente en plasma y utiliza la metodología de tipo ELISA sándwich, en la que se emplea un anticuerpo de captura para la metaloproteasa y luego, un segundo anticuerpo marcado que participa en una reacción colorimétrica. El determinante de las diferencias entre los distintos métodos es el uso de anticuerpos monoclonales versus policlonales tanto en los anticuerpos de captura como en los de detección.³⁹

En la cPTT, tanto la actividad como los niveles antigénicos de ADAMTS13 suelen encontrarse disminuidos, mientras que en la iPTT puede no haber concordancia entre ambos ensayos debido a la naturaleza de los anticuerpos presentes: neutralizantes (mayoritarios: inhiben la actividad enzimática) y no neutralizantes (minoritarios: aceleran la eliminación de ADAMTS13, pero no inhiben su actividad).^{4,41} Por este motivo, se considera que la determinación antigénica brinda menor sensibilidad que la medida de actividad enzimática para el diagnóstico de iPTT y no debe ser usada como única prueba.⁴¹

Determinación de inhibidor y anticuerpos anti-ADAMTS13

En la mayoría de las iPTT pediátricas se encuentran presentes autoanticuerpos, de los cuales los de isotipo IgG son los predominantes. El principal blanco de estos anticuerpos es el dominio espaciador de la metaloproteasa. Ante un resultado de actividad enzimática menor de 10 UI/dL [o menor del 10 %], se debería proceder a la búsqueda de autoanticuerpos. Si estos se encuentran presentes, se confirma el diagnóstico de iPTT, mientras que, si no se detectan, no se

podría descartar el diagnóstico y deberían realizarse otras determinaciones como el ensayo tipo Bethesda, ensayo de mezclas para búsqueda de inhibidores [ambas técnicas detectan anticuerpos neutralizantes], búsqueda de otros isotipos como IgM e IgA y/o evaluar respuesta al tratamiento mediante la determinación de actividad de ADAMTS13 durante el seguimiento⁵. Se recomienda la determinación de autoanticuerpos frente a los ensayos tipo Bethesda y mezclas. El ensayo más utilizado es ELISA IgG. El calibrador, las unidades en las que se reporta el resultado y los puntos de corte varían entre los diferentes ensayos disponibles. No se dispone de un estándar internacional de referencia para los ensayos de autoanticuerpos ni ensayos de inhibidor, lo que dificulta la comparación de resultados entre los distintos métodos.²⁹

Es mandatorio establecer algoritmos diagnósticos apropiados que permitan establecer las causas de las MAT, en los cuales la medida de ADAMTS13 tiene un rol fundamental a la hora de intentar establecer la patología de origen. En el Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, se propone el abordaje diagnóstico que se muestra en la Figura 1.

Caso clínico

En diciembre del 2021, se presenta a la guardia una paciente de 15 años de edad, previamente sana, derivada de otra institución, con síntomas neurológicos (episodio de parestesias en hemicuerpo derecho), vómitos y cansancio. En días previos a la consulta inicial, presentó una metrorragia de 10 días de evolución. Sus antecedentes clínicos no incluían desórdenes hematológicos personales ni familiares. La paciente es internada en la Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos debido a la gravedad del cuadro y para la realización de estudios de imagen y de laboratorio. La angiografía magnética de sistema nervioso central no mostró particularidades. Los resultados de laboratorio al ingreso se muestran en la Tabla I. Se observa una marcada anemia de características regenerativas, con elevación

Tabla I. Parámetros de laboratorio de la paciente al ingreso

Parámetro	Valor	Rango de referencia
Leucocitos	9,0x10 ³ /ul	4,5 - 13,0 /ul
Hemoglobina	8,2 g/dL	12,0 - 16,0 g/dl
Hematocrito	23,7 %	31,0 - 47,0 %
Plaquetas	10 x10 ³ /ul	150 - 450 x10 ³ ul
Reticulocitos	24,2 %	0,5 - 2,5 %
Lactato deshidrogenasa	1615 UI/L	≤ 250 UI/L
Urea	38 mg/dL	8 - 41 mg/dl
Creatinina	0,85 mg/dL	0,51 - 0,95 mg/dl
Bilirrubina total	5,44 mg/dL	≤ 1,20 mg/dl
Bilirrubina directa	1,36 mg/dL	≤ 0,30 mg/dl
Prueba de Coombs directa	Negativa	Negativa

del recuento de reticulocitos. En la revisión del extendido de sangre periférica, se observaron eritroblastos, policromatofilia y presencia de esquistocitos (>1 %) compatibles con una anemia hemolítica microangiopática. Las pruebas de coagulación fueron normales. Los estudios serológicos virales y cultivos bacteriológicos fueron negativos.

Debido a la presencia de síntomas neurológicos, la función renal conservada y la plaquetopenia severa, la sospecha diagnóstica fue PTT. Se solicitó el dosaje de ADAMTS13 y comenzó el tratamiento con corticoides y recambio plasmático intensivo incorporando rituximab luego de la confirmación diagnóstica.

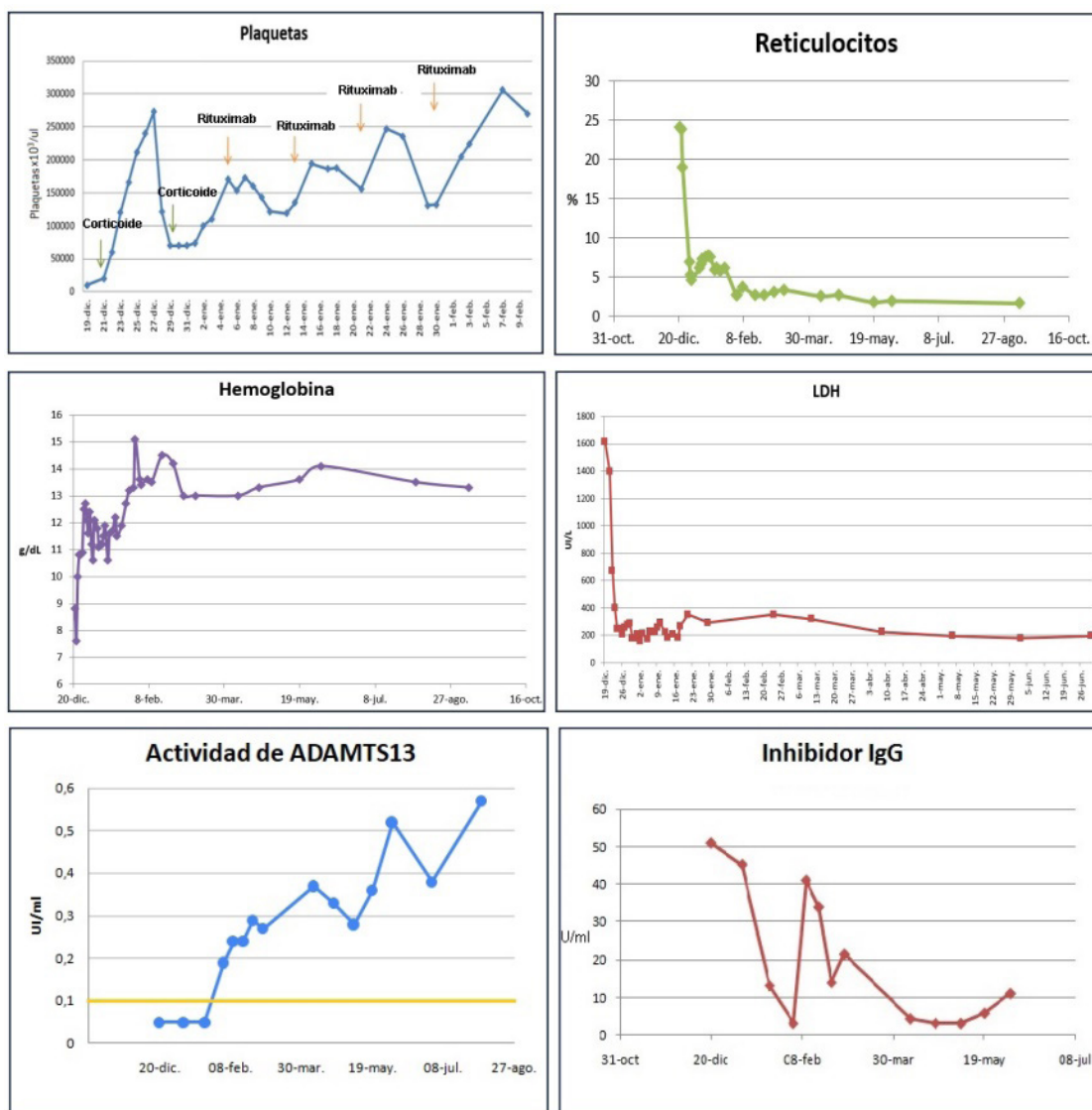
La actividad de ADAMTS13 medida por ELISA resultó menor de 10 UI/dl (VR: 40-130 UI/dl), por lo que se procedió a estudiar la presencia de su inhibidor y se obtuvo un resultado positivo de anticuerpos de isotipo IgG. Esto permitió

confirmar el diagnóstico de iPTT y, no pudiéndose establecer la causa desencadenante, se realizó el diagnóstico de iPTT idiopática.

La paciente tuvo una evolución favorable y se observó un aumento en la actividad de ADAMTS13 con negativización de su inhibidor y una mejoría de los síntomas y de los parámetros de laboratorio (Figura 2). En la figura 2, se muestran, además, los valores del recuento de plaquetas durante el seguimiento, se puede observar la respuesta al tratamiento y se evidencia cómo, a pesar del curso inestable y de las infecciones que presentó a lo largo del tratamiento, luego de comenzada la terapia con rituximab, las plaquetas comienzan a aumentar, a la vez que se ve una notable disminución del recuento de reticulocitos, con normalización de la hemoglobina y disminución de la LDH.

A los 6 meses del diagnóstico, se encontraba bajo trata-

Figura 2. Evolución de los valores de plaquetas ($\times 10^3/\text{ul}$), reticulocitos (%), hemoglobina (g/dl), LDH (UI/l), actividad de ADAMTS13 (UI/ml) e inhibidor de ADAMTS13 tipo IgG (UI/ml) durante la internación y el seguimiento.



miento ambulatorio con corticoides en descenso y monitoreo de sus parámetros clínicos y de laboratorio, incluida la medida mensual de actividad de ADAMTS13.

En iPTT, las recidivas son frecuentes, por lo que el seguimiento debería ser de por vida. Es un desafío para el equipo de salud consensuar la frecuencia del monitoreo, así como también establecer el rol de la medición de ADAMTS13 como predictor de recaídas.

Con base en la sospecha clínica al ingreso y el uso del algoritmo diagnóstico, se logró diagnosticar iPTT en una paciente de 15 años de edad. Contar con la medida de actividad de ADAMTS13 y el estudio de su inhibidor [IgG] dentro de los tiempos requeridos (menos de 72 horas) resulta de suma importancia para mantener o cambiar el tratamiento iniciado al confirmarse la MAT.

Discusión

La medida de actividad de ADAMTS13 está directamente relacionada con el diagnóstico de PTT, que constituye una urgencia hematológica. Existen diferentes métodos comerciales para realizar la medición de actividad enzimática, con diferente sensibilidad, límite de cuantificación e intervalos de referencia reportados. Se debe conocer el desempeño del método empleado, teniendo en cuenta que, si se utiliza un kit comercial, se requiere la verificación del desempeño mediante la comparación con otro laboratorio y el uso de un programa de control de calidad externo.²⁹

El punto de corte para establecer una deficiencia severa de la metaloproteasa es por debajo de 10 UI/dL en la población adulta y en pediatría. Si el método se encuentra contrastado contra el calibrador aprobado por la OMS, el informe de la actividad enzimática puede realizarse en UI/dL. El resultado de la medida de actividad de ADAMTS13 debería estar disponible, idealmente, en un lapso de 72 horas, mientras que se considera aceptable si el informe se realiza dentro de los 7 días de ingresada la muestra al laboratorio.¹

Si bien existen modelos como el PLASMIC⁴² o el *score* francés⁴³ que evalúan el riesgo de PTT utilizando puntajes en los que intervienen parámetros como el recuento de plaquetas, los niveles de creatinina, la RIN (razón internacional normatizada), el VCM y otros, estos modelos requieren su validación en la población pediátrica.^{1,44}

Los ensayos recomendados para el diagnóstico de PTT deberían incluir la actividad de ADAMTS13 y la búsqueda de autoanticuerpos o, en su defecto, ensayo de mezclas para búsqueda de inhibidor.³ Actualmente, existen definiciones relacionadas con la PTT en las que la medida de actividad de ADAMTS13 cobra un rol fundamental, donde se define como *recaída de laboratorio* una actividad de ADAMTS13 por debajo de 20 UI/dl, sin trombocitopenia, que precede por lo general a la recaída clínica (trombocitopenia). También se definen *respuesta al tratamiento* cuando la actividad de la metaloproteasa es mayor de 30 UI/dL y *respuesta completa al tratamiento*, si la actividad es mayor de 60 UI/dL.⁴⁵

La medida de ADAMTS13 en la iPTT, en forma regular, du-

rante el tratamiento (por ejemplo, semanalmente) y en la fase de remisión (cada mes y luego cada 3 meses, pudiendo extenderse a 6-12 meses luego de 3 años) podría proveer datos importantes con respecto al riesgo de recaída y la persistencia de enfermedad activa subclínica.⁴⁶

La sospecha clínica de una púrpura trombocitopénica trombótica en pacientes pediátricos y la medida de actividad de ADAMTS13 son fundamentales para intentar establecer la etiología de las microangiopatías trombóticas¹ e instaurar un tratamiento eficaz y oportuno. Por el contrario, un retraso en el tratamiento podría resultar en un mayor daño orgánico con el consiguiente aumento de la mortalidad.

Referencias bibliográficas

- Zheng XL, Vesely SK, Cataland SR, Coppo P, Geldziler B, Iorio A et al. ISTH guidelines for the diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost* 2020;18:2486-95.
- Joly BS, Stepanian A, Leblanc T, Hajage D, Chambost H, Harambat J et al. Child-onset and adolescent-onset acquired thrombotic thrombocytopenic purpura with severe ADAMTS13 deficiency: a cohort study of the French national registry for thrombotic microangiopathy. *Lancet Haematol* 2016; 3:e537 e546.
- Scully M, Cataland S, Coppo P, de la Rubia J, Friedman K, Kremer Hovinga J et al. Consensus on the standardization of terminology in thrombotic thrombocytopenic purpura and related thrombotic microangiopathies. *J Thromb Haemost* 2017; 15:312-322.
- Fakhouri F, Zuber J, Frémeaux-Bacchi V, Loirat C. Haemolytic uraemic syndrome. *Lancet* 2017;390(10095):681-696.
- Joly BS, Coppo P, Veyradier A. Thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2017; 129:2836-2846.
- Furlan M, Robles R, Morselli B, Sandoz P, Lämmle B. Recovery and half-life of von Willebrand factor-cleaving protease after plasma therapy in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Thromb Haemost* 1999; 81(1):8-13.
- Feys HB, Anderson PJ, Vanhoorelbeke K, Majerus E, Sadler J. Multi-step binding of ADAMTS-13 to von Willebrand factor. *J Thromb Haemost* 2009; 7(12):2088-2095.
- Dong JF, Moake JL, Nolasco L, Bernardo A, Arceneaux W, Shrimpton CN et al. ADAMTS-13 rapidly cleaves newly secreted ultralarge von Willebrand factor multimers on the endothelial surface under flowing conditions. *Blood* 2002; 100(12):4033-4039.
- Dong JF. Cleavage of ultra-large von Willebrand factor by ADAMTS-13 under flow conditions. *J Thromb Haemost*. 2005; 3(8):1710-1716.
- Ercig B, Wichapong K, Reutelingsperger CPM, Vanhoorelbeke K, Voorberg J, Nicolaes G et al. Insights into 3D Structure of ADAMTS13: A Stepping Stone towards Novel Therapeutic Treatment of Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *Thromb Haemost* 2018; 118(1):28-41.
- Kremer Hovinga J, Coppo P, Lämmle B, Moake J, Miyata T, Vanhoorelbeke K et al. Thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nat. Rev. Dis. Prim* 2017; 3(1):1-17.
- Tersteeg C, Fijnheer R, Pasterkamp G, de Groot P, Vanhoorelbeke K, de Maaty S et al. Keeping von Willebrand Factor under Control: Alternatives for ADAMTS13. *Semin Thromb Hemost* 2016; 42(1):9-17.
- Fujimura Y, Lämmle B, Tanabe S, Sakai K, Kimura T, Kokame K et al. Patent ductus arteriosus generates neonatal hemolytic jaundice with thrombocytopenia in Upshaw-Schulman syndrome. *Blood Adv* 2019; 3(21):3191-3195.
- Jain A, Mohamed A, Kavanagh B, Shah P, Kuipers B, EL-Khuffash A et al. Cardiopulmonary adaptation during the first day of life in human neonates. *J Pediatr* 2018; 200(1):50-57.
- Favaloro EJ, Mohammed S, Chapman K, Swanepoel P, Zebeljan D, Sefhore O et al. A multicenter laboratory assessment of a new automated chemiluminescent assay for ADAMTS13 activity. *J Thromb Haemost* 2021;

- 19(2):417-428.
16. Kremer Hovinga JA, George JN. Hereditary thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 2019; 381(17):1653-1662.
 17. Siddiqui A, Journeycake JM, Borogovac A, George J. Recognizing and managing hereditary and acquired thrombotic thrombocytopenic purpura in infants and children. *Pediatr Blood Cancer* 2021; 68:e28949.
 18. Hassan A, Iqbal M, George JN. Additional autoimmune disorders in patients with acquired autoimmune thrombotic thrombocytopenic purpura. *Am J Hematol* 2019; 94(6):E172–E173.
 19. Sukumar S, Lämmle B, Cataland SR. Thrombotic Thrombocytopenic Purpura: Pathophysiology, Diagnosis, and Management. *J Clin Med* 2021;10(3):536.
 20. George J, Nester C. Syndromes of thrombotic microangiopathy. *N Engl J Med* 2014; 371: 1847-1848.
 21. Ayanambakkam A, Kremer Hovinga JA, Vesely SK, George J. Diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura among patients with ADAMTS13 activity 10–20%. *Am J Hematol* 2017; 92(11):e644-e646.
 22. Blennerhassett R, Curnow J, Pasalic L. Immune-Mediated Thrombotic Thrombocytopenic Purpura: A Narrative Review of Diagnosis and Treatment in Adults. *Semin Thromb Hemost* 2020; 46(3):289-301.
 23. Rock GA, Shumak KH, Buskard NA, Blanchette VS, Kelton JG, Nair RC, Spasoff RA. Comparison of plasma exchange with plasma infusion in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. Canadian Apheresis Study Group. *N Engl J Med* 1991; 325: 393-397.
 24. Masias C, Cataland SR. The role of ADAMTS13 testing in the diagnosis and management of thrombotic microangiopathies and thrombosis. *Blood* 2018; 132(9):903-910.
 25. Roose E, Schelpe AS, Joly BS, Peetermans M, Verhamme P, Voorberg J et al. An open conformation of ADAMTS-13 is a hallmark of acute acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost* 2018; 16(02): 378–388.
 26. South K, Luken BM, Crawley JT, Lane D. Conformational activation of ADAMTS13. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111:18578-18583.
 27. Muia J, Zhu J, Gupta G, Sadler E. Allosteric activation of ADAMTS13 by von Willebrand factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014;111:18584-18589.
 28. CLSI. Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline-fifth edition. CLSI document H21-A5. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
 29. Mackie I, Mancini I, Muia J, Kremer Hovinga J, Nair S, Machin S, Baker R. International Council for Standardization in Haematology (ICSH) recommendations for laboratory measurement of ADAMTS13. *Int J Lab Hematol* 2020; 42:685–696.
 30. Peyvandi F, Palla R, Lotta LA, Mackie L, Scully M, Machin S. ADAMTS-13 assays in thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost* 2010; 8:631-640.
 31. Zhang L, Lawson HL, Harish VC, Huff JD, Knovich MA, Owen J. Creation of a recombinant peptide substrate for fluorescence resonance energy transfer-based protease assays. *Anal Biochem* 2006; 358:298-300.
 32. Kato S, Matsumoto M, Matsuyama T, Isonishi A, Hiura H, Fujimura Y. Novel monoclonal antibody-based enzyme immunoassay for determining plasma levels of ADAMTS13 activity. *Transfusion* 2006; 46:1444-1452.
 33. Valsecchi C, Mirabet M, Mancini I, Biganzoli M, Schiavone L, Faraudo S, et al. Evaluation of a new, rapid, fully automated assay for the measurement of ADAMTS13 activity. *Thromb Haemost* 2019; 119:1767-1772.
 34. Hubbard AR, Heath AB, Kremer Hovinga JA. Subcommittee on von Willebrand Factor. Establishment of the WHO 1st International Standard ADAMTS13, plasma {12/252}: communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost* 2015; 13(6):1151-3.
 35. Pascual C, Nieto JM, Fidalgo T, Seguí IG, Díaz-Ricart M, Docampo MF, et al. Multicentric evaluation of the new HemosIL Acustar® chemiluminescence ADAMTS13 activity assay. *Int J Lab Hematol* 2021;43(3):485-493.
 36. Ling G, Brannan B, Foxton E. Real-World Variability in ADAMTS13 Assay Methods May Impact upon Follow up for Patients with Thrombotic Thrombocytopenic Purpura (TTP). *Blood* 2021;138(Supplement 1):2085.
 37. Geiter S, Wagner L, Binder N, Budde U. Evaluation of a New Fully Automated ADAMTS13 Activity Assay [abstract]. *Res Pract Thromb Haemost* 2021; 5 (Suppl 2). <https://abstracts.isth.org/abstract/evaluation-of-a-new-fully-automated-adamts13-activity-assay/>. Accessed February 14, 2023.
 38. Moore GW, Meijer D, Griffiths M, Rushen L, Brown A, Budde U, et al. A multi-centre evaluation of technoscreen ADAMTS13 Activity ELISA as a screening tool for detecting deficiency of ADAMTS-13. *J Thromb Haemost* 2020; 18:1686-1694.
 39. Tripodi A, Peyvandi F, Chantarangkul V, Palla R, Afrasiabi A, Canciani MT, et al. Second international collaborative study evaluating performance characteristics of methods measuring the von Willebrand factor cleaving protease (ADAMTS-13). *J Thromb Haemost* 2008; 6(9):1534-41.
 40. Rieger M, Ferrari S, Kremer Hovinga JA, Konetschny C, Herzog A, Koller L, et al. Relation between ADAMTS13 activity and ADAMTS13 antigen levels in healthy donors and patients with thrombotic microangiopathies (TMA). *Thromb Haemost* 2006; 95(2):212-20.
 41. Starke R, Machin S, Scully M, Purdy G, Mackie I. The clinical utility of ADAMTS13 activity, antigen and autoantibody assays in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 2007; 136(4):649-55.
 42. Bandapudi PK, Hurwitz S, Fry A, Marques MB, Waldo SW, Li A, et al. Derivation and external validation of the PLASMIC score for rapid assessment of adults with thrombotic microangiopathies: a cohort study. *Lancet Haematol* 2017; 4:e157-e164.
 43. Coppo P, Schwarzinger M, Buffet M, Wynckel A, Clabault K, Presne C, et al. Predictive features of severe acquired ADAMTS13 deficiency in idiopathic thrombotic microangiopathies: the French TMA reference center experience. *PLoS One* 2010; 5:e10208.
 44. Upadhyay VA, Geisler BP, Sun L, Uhl L, Kaufman RM, Stowell C, et al. Utilizing a PLASMIC score-based approach in the management of suspected immune thrombotic thrombocytopenic purpura: a cost minimization analysis within the Harvard TMA Research Collaborative. *Br J Haematol* 2019; 186(3):490-498.
 45. Cuker A, Cataland S, Coppo P, de la Rubia J, Friedman KD, George JN, et al. Redefining outcomes in immune TTP: an international working group consensus report. *International Working Group for Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. Blood* 2021; 137(14):1855-1861.
 46. Jin M, Casper TC, Cataland SR, Kennedy MS, Lin S, Li YJ, Wu HM. Relationship between ADAMTS-13 activity in clinical remission and the risk of TTP relapse. *Br J Haematol* 2008; 141: 651-8.

ARTÍCULO ORIGINAL

Cuantificación de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 en el personal de salud vacunado del Hospital Rawson de la provincia de Córdoba

Quantification of IgG antibodies against SARS-CoV-2 on the staff of the Rawson Hospital, Córdoba Province, Argentina

Barrientos Alvarado, Carla Daniela¹; Zini, Cecilia¹, Collino, Cesar Juan Gerardo^{1,2}

¹Servicio de Laboratorio, Hospital G. Rawson, Ministerio de Salud de la Provincia de Córdoba. Córdoba, Argentina

²Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CIBICI-CONICET), Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina.

*Barrientos Alvarado, Carla Daniela; Caleta Olivia, Santa Cruz, C.P. 9011 Hospital Rawson de la Provincia de Córdoba.

Resumen

Introducción: En diciembre del 2020, se implementó el ensayo IgG II contra el SARS-CoV-2 y, a su vez, a partir del 29 de diciembre del 2020, comenzó en todo el país la inmunización con la vacuna *Sputnik V*. Objetivo: Cuantificar en mujeres y hombres los anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 producidos en respuesta a la vacunación con *Sputnik V* evaluando si los mismos presentan diferencias entre pacientes que cursaron la infección y los que no, y también, si difieren por sexo. Materiales y métodos: Se recolectaron muestras de suero del personal de salud del Hospital Rawson a los 14, 42 y 60 días después de la primera dosis de vacuna. Las muestras fueron clasificadas por sexo y con base en la infección o no precedente por SARS-CoV-2. La cuantificación de los anticuerpos fue realizada con el kit SARS-CoV-2 IgG II Quant y el análisis estadístico, con el software *InfoStat* utilizando el test Mann - Whitney. El nivel de significancia fue del 5 %. Resultados: El sexo no sería un factor diferenciador en la concentración de anticuerpos en pacientes que no cursaron previamente la infección ($p > 0,05$), en los días 14, 42 y 60. En personas que padecieron la infección, no existen diferencias significativas en los días 14 y 60 ($p > 0,05$), pero sí, en el día 42 posterior a la vacunación ($p < 0,05$). Las personas con infección previa presentan concentraciones de anticuerpos más altas que los individuos que no la padecieron ($p > 0,05$). Conclusión: Distintos estudios plantean que una dosis de vacuna en personas que cursaron la infección por SARS-CoV-2 produce un aumento significativo tal en la concentración de anticuerpos que la segunda dosis podría posponerse. Esto justificaría la vacunación con dos dosis de personas que no padecieron la enfermedad.

Palabras clave: COVID-19, infección, anticuerpos, vacunación, SARS-CoV-2, pandemia.

Abstract

Introduction: The quantitative assay called IgG II against SARS-CoV-2 has been available on the market since December 2020, and the nationwide vaccination of the population with Sputnik V began on December 29, 2020. Aim: To quantify the IgG anti-SARS-CoV-2 antibodies produced in women and men in response to vaccination with Sputnik V, and to evaluate whether they differ between patients who had the infection and those who did not and whether they differ between sexes. Materials and Methods: Post-vaccination samples of the staff of the Rawson Hospital, Córdoba Province, Argentina, were collected 14, 42, and 60 days after the first dose of the Sputnik V vaccine. Samples were classified by sex and based on SARS-CoV-2 infections or not. The antibodies were quantified with the SARS-CoV-2 IgG Quant kit. The data were statistically analyzed with the software InfoStat using the Mann-Whitney test. The level of significance was 5%. Results: Sex would not be a differentiating factor in the concentration of antibodies in patients without previous infection ($p > 0.05$) on days 14, 42, and 60 post-vaccination. Patients who had suffered the infection showed no significant differences on days 14 and 60 post-vaccination ($p > 0.05$), but on days 42 post-vaccination ($p < 0.05$). Conclusion: Different reports have concluded that a dose of vaccination in people previously infected with SARS-CoV-2 results in a significant increase in the concentration of antibodies and, thus, the second dose could be postponed. This would justify the vaccination with two doses for the people who did not suffer from the disease.

Keywords: COVID-19, infection, antibodies, vaccination, SARS-CoV-2, pandemic.

Introducción

Los primeros casos de neumonía severa a causa del nuevo coronavirus fueron reportados en Wuhan, China en diciembre del 2019¹⁻³. La infección por SARS-CoV-2 genera diversos síntomas, que van de leves a severos^{4,5} y que incluyen: fiebre, tos, disnea, mialgias, faringitis, diarrea, neumonía, síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA), falla multiorgánica, tormenta de citoquinas, daño endotelial y eventos trombóticos^{5,6}. Alrededor del 80 % de los pacientes infectados presenta sintomatología moderada^{2,3,7,8}, mientras que un cuadro severo (hipoxia o afectación pulmonar >50 %) se presenta en aproximadamente 15 % de los pacientes y un cuadro crítico (falla respiratoria, falla multiorgánica o shock), en alrededor del 5 %^{7,8}.

El SARS-CoV-2 se transmite por gotas respiratorias, contacto directo con fómites, contacto estrecho de persona a persona y por generación de aerosoles; ingresa al hospedador por vía nasal e infecta células pulmonares⁹. El receptor funcional para SARS-CoV-2 es la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2)¹⁰, que se expresa tanto en células epiteliales alveolares y en enterocitos del intestino delgado como en células endoteliales de venas y del músculo liso¹¹. La proteína *spike* (S) de este virus se une a receptores de reconocimiento de patrones (PRR) activando la liberación de citoquinas, tales como los interferones tipo I y III, principalmente, y también TNF- α (factor de necrosis tumoral alfa), IL-6 (interleuquina 6) e IL-18 (interleuquina 18). Existe evidencia de que la respuesta de células mieloides desreguladas podría conducir a los síndromes característicos de la COVID-19 como el síndrome del distrés respiratorio agudo (SDRA), síndrome de liberación de citoquinas (SLC) y linfopenia^{11,12}.

Estudios preliminares de la COVID-19, así como estudios de otros coronavirus relacionados, evidencian que IL-6, IL-1 (interleuquina 1-beta) e IFN-I/III, secretados por un epitelio pulmonar infectado, podrían inducir perfiles inflamatorios en macrófagos residentes, mientras se reclutan monocitos inflamatorios, así como granulocitos y linfocitos de la circulación. La liberación sostenida de IL-6 y TNF- α por parte de los monocitos que ingresan al tejido pulmonar podría conducir a varias cascadas de hiperinflamación. Los macrófagos podrían amplificar estas respuestas disfuncionales¹¹⁻¹³. La tormenta de citoquinas y el síndrome de linfohistiocitosis hemofagocítica (SHLH) estarían relacionados con la inducción de *NETosis* y microtrombosis, que agravan la severidad del cuadro¹¹⁻¹³. Valores de ferritina y de IL-6 elevados sugerirían que la mortalidad podría estar asociada a una hiperinflamación secundaria a la infección viral^{6,13}. En este sentido, la inflamación causada por el SARS-CoV-2 puede resultar en una tormenta de citoquinas que podrían llevar a una falla multiorgánica, lo cual estaría asociado a una elevada morbimortalidad¹⁰.

El diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 se realiza en muestras de hisopados nasofaríngeos y orofaríngeos a los cuales se los somete a la prueba de *rt-PCR*. La especificidad de esta prueba ha sido reportada en un 100 %¹⁴ debido a que el diseño del *primer* es específico de la secuencia del genoma del

SARS-CoV-2. Sin embargo, se reporta una relativa cantidad de resultados falsos negativos en este test, lo cual podría deberse a recolectar la muestra en un momento inadecuado del proceso de la infección o a una falla en la técnica de muestreo¹⁴. Al valorar la respuesta inmune frente al SARS-CoV-2 cuantificando anticuerpos de tipo IgG e IgM, es posible detectar individuos cuya manifestación clínica fue leve o nula¹⁴⁻¹⁶.

El ARN del SARS-CoV-2 codifica para cuatro proteínas estructurales: *spike* (S), compuesta por dos subunidades: S1 y S2, membrana (M), envoltura (E) y nucleocápside (N). El dominio de unión al receptor (RBD) está incluido dentro de la subunidad S1¹⁴⁻¹⁵. La mayoría de los anticuerpos producidos durante la infección reaccionan contra la proteína N del virus, aunque los anticuerpos contra la proteína S son considerados más específicos y también correlacionan con la capacidad neutralizante¹⁷.

El 29 de diciembre del 2020, comenzó la vacunación de la población con la vacuna Gam-COVID-Vac (*Sputnik V*), basada en dos vectores adenovirales distintos (rAd26 y rAd5), suministrados en dos dosis en un lapso de 21 días. Ambos vectores codifican para el gen de la glicoproteína S. Una dosis contiene $[1,0 \pm 0,5] \times 10^{14}$ partículas virales para cada adenovirus recombinante, a la vez que, el gen de la proteína S del virus para inyección intramuscular^{18,19}.

Con este esquema, se documentó que, a los 21 días de la primera dosis, la eficacia de esta vacuna fue del 91,6 % y que no se presentaron casos de COVID-19 moderados o severos por lo cual, frente a estas presentaciones clínicas, la eficacia fue del 100 %¹⁸.

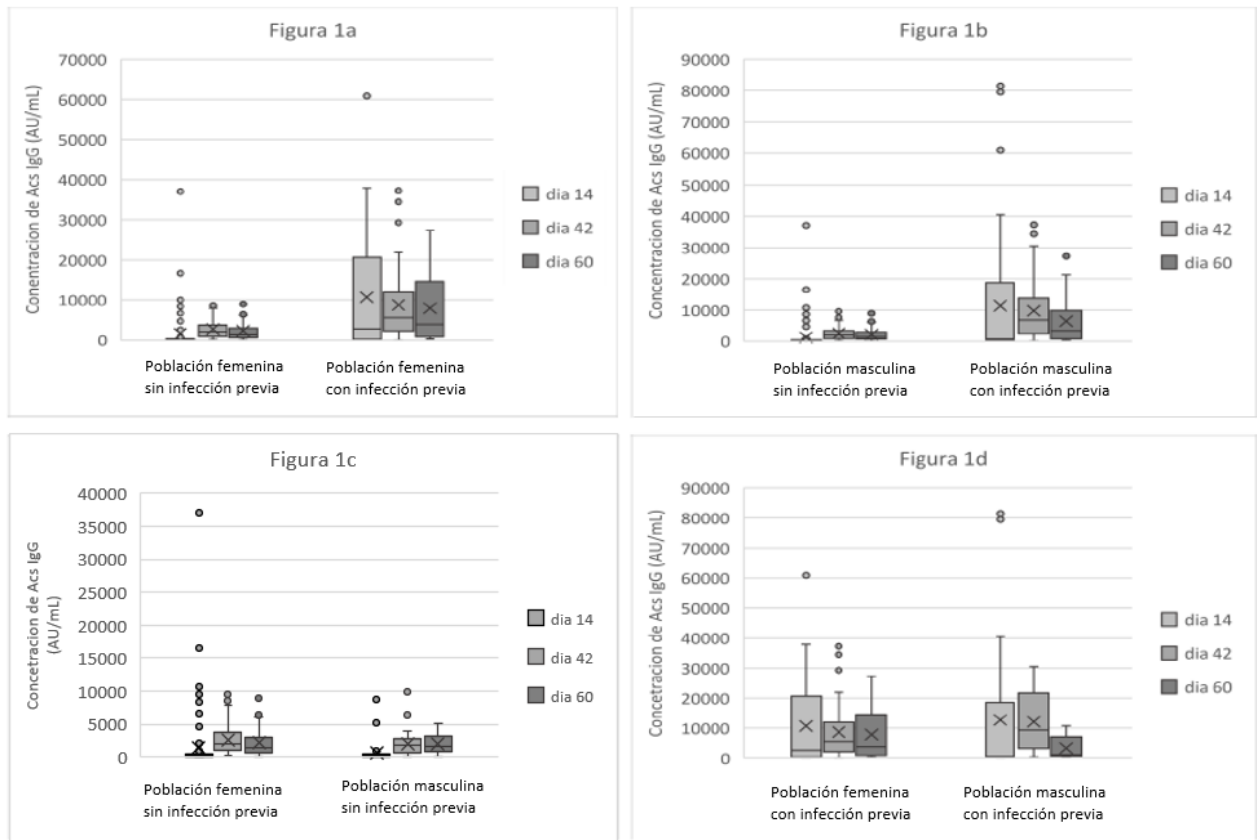
Al cuantificar los anticuerpos IgG anti-RBD, se observó un 98 % de seroconversión a los 42 días en los pacientes a los cuales se les suministró la vacuna y una seroconversión del 15 % en el grupo placebo¹⁸.

Al categorizar como grupo prioritario al personal de salud, siguiendo los lineamientos de la Campaña Nacional de Vacunación para COVID-19, sus integrantes comenzaron a recibir la primera dosis el 29 de diciembre del 2020¹⁹. A su vez, en ese mes, salió al mercado el ensayo cuantitativo IgG II para SARS-CoV-2, un inmunoensayo de micropartículas, quimioluminiscente (CMIA), diseñado para detectar anticuerpos de clase IgG contra la proteína RBD de la subunidad S1 de la proteína *spike* del SARS-CoV-2 de manera cualitativa y cuantitativa en suero y plasma de humanos en los equipos ARCHITECT (Abbott).

Previamente, en nuestro hospital contábamos con dos kits para la detección semicuantitativa de los anticuerpos: SARS-CoV-2 IgM, diseñado para detectar anticuerpos IgM frente a la proteína *spike* del SARS-CoV-2, y SARS-CoV-2 IgG, que detecta anticuerpos IgG contra la nucleocápside del SARS-CoV-2. Debido a que los vectores utilizados en la vacuna *Sputnik V* codifican para la proteína S del virus, el kit SARS-CoV-2 IgG no podría utilizarse para evaluar respuesta humoral frente a esta vacuna.

Para evaluar el desempeño de este kit, se realizó un trabajo conjunto con el Instituto de Virología "Dr. J.M. Vanella" (InViv) en el que se comparó esta técnica con la metodología

Figura 1. Cuadros comparativos de concentración de anticuerpos durante distintos días de extracción (14, 42 y 60) de poblaciones sin infección previa y con infección previa y de poblaciones masculina y femenina



- 1a. Comparación de concentración de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 (AU/mL) de la población femenina que no contrajo COVID-19 frente a la población femenina con infección previa conocida a lo largo de los días 14, 42 y 60 posteriores a la primera dosis de Sputnik V. 1b. Comparación de concentración de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 (AU/mL) de la población masculina que no contrajo COVID-19 frente a la población masculina con infección previa, a lo largo de los días 14, 42 y 60 después de la primera dosis de Sputnik V. 1c. Comparación de concentración de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 (AU/mL) entre población femenina que no contrajo COVID-19 y población masculina que tampoco contrajo la infección, a lo largo de los días 14, 42 y 60 después de la primera dosis de Sputnik V. 1d. Comparación de concentración de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 (AU/mL) de población femenina que sí contrajo COVID-19 y población masculina que también contrajo la infección, a lo largo de los días 14, 42 y 60 después de la primera dosis de Sputnik V.

desarrollada en ese instituto, denominada *técnica de neutralización viral por reducción en placas* (TNRP) para la detección y cuantificación de anticuerpos neutralizantes (AcNT) contra el SARS-CoV-2²⁰. Esta técnica es un ensayo biológico considerado como metodología de referencia (*gold standard*) para medir la inhibición de la infección viral a la célula por medio de anticuerpos específicos.

Se evaluaron 397 muestras y se halló una correlación positiva entre los valores de anticuerpos anti-S valorados por el kit y los títulos de AcNT²¹. Los resultados demostraron un desempeño satisfactorio del equipo SARS-CoV-2 IgG II Quant para estimar la presencia de AcNT en suero humano²¹.

Se estima que la cinética de seroconversión es similar a la de otras infecciones virales. Según la bibliografía, la dinámica de aparición de la IgG presenta un patrón de pico, luego desarrolla una meseta para, posteriormente, mantenerse en valores bajos. El pico de los valores de IgG se alcanzaría aproximadamente entre 3 y 7 semanas⁸. Un estudio realizado en

Buenos Aires, Argentina, por el CONICET y distintos centros asistenciales de la provincia demostró la seroconversión en el 100 % del personal de salud vacunado a los 21 días después de la primera dosis y el aumento de títulos IgG anti-Spike y anticuerpos neutralizantes en individuos con infección previa²². En este sentido, el Hospital Rawson, en colaboración con el InViv, en un estudio realizado en el personal de salud y analizando la producción de anticuerpos IgG frente a la vacunación con Sputnik V, evidenció que, al día 14 después de la primera dosis, el 85,5 % de la cohorte había desarrollado anticuerpos contra el virus, y este porcentaje se elevó al 99,6 % al día 42²³.

El objetivo del estudio fue evaluar la respuesta del sistema inmune valorando la producción de anticuerpos luego de la inyección de la vacuna *Sputnik V* en el personal de salud del Hospital Rawson los días 14, 42 y 60 después de la vacunación, analizando si la respuesta inmune variaba en función de la edad o del sexo y entre pacientes con y sin infección previa.

Tabla I. Concentración medida de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2

Infección ^a	Período de extracción ^b	Media de Ac IgG [AU/mL] ^c	D.E. [AU/mL] ^d	p valor [Test de Shapiro - Wilks] ^e
NO	Día 14	1213,20	3955,05	<0,0001
NO	Día 42	2486,81	2159,40	<0,0001
NO	Día 60	2140,44	2149,16	<0,0001
SI	Día 14	11314,12	16217,04	<0,0001
SI	Día 42	9737,74	9229,58	<0,0001
SI	Día 60	6364,42	7245,15	<0,0001

^a Personal de salud sin infección previa por SARS-CoV-2 (NO); personal de salud con infección previa por SARS-CoV-2 (SI); ^b día de extracción (tomado como día “cero” el de la primera dosis de Sputnik V); ^c concentración de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 [AU/mL] expresados como “media” en cada subgrupo; ^d desviación estándar correspondiente a cada media de concentración de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 [AU/mL]; ^e p, valor obtenido al aplicar el test de Shapiro - Wilks.

Materiales y métodos

Población en estudio

Este estudio tuvo lugar en el Hospital Rawson de la provincia de Córdoba, centro de salud de referencia para el tratamiento de la COVID-19 en Córdoba. A partir de enero 2021, se invitó a los trabajadores de la institución a participar de este estudio prospectivo de forma voluntaria con la finalidad de protocolizar controles serológicos para evaluar la respuesta de anticuerpos por vacunación para SARS-CoV-2.

Criterios de inclusión

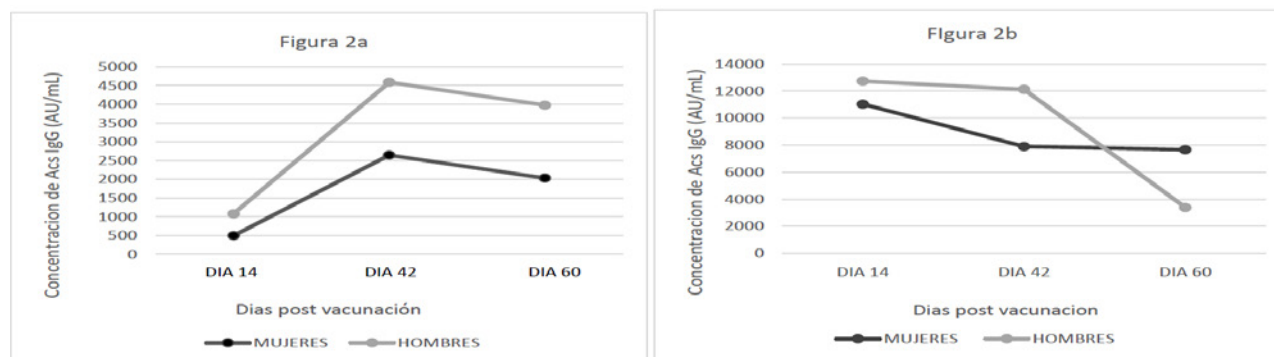
Se incluyó a todo el personal de salud del Hospital Rawson entre 20 y 60 años, así como también al personal de limpieza y administrativo, que recibió la vacuna *Sputnik V*. El esquema de toma de muestras comprendió extracciones seriadas de sangre a los 14, 42 y 60 días después de la primera dosis de vacunación.

Se establecieron los siguientes grupos de estudio: sexo masculino; sexo femenino; con infección por SARS-CoV-2; sin infección por SARS-CoV-2.

Manejo de muestras

Las muestras fueron extraídas en el laboratorio del Hospital Rawson en tubos con gel separador (suero) y fueron analizadas con el ensayo SARS-CoV-2 IgG II Quant. Este test detecta la IgG contra el dominio RBD de la subunidad S de la proteína *spike* del SARS-CoV-2. Se realiza una incubación que comprende la muestra, las micropartículas paramagnéticas recubiertas de antígeno SARS-CoV-2 y el diluyente del ensayo. Los anticuerpos IgG contra el SARS-CoV-2 presentes en la muestra se unen a las micropartículas recubiertas con el antígeno SARS-CoV-2. En un paso posterior, se adiciona el conjugado anti-IgG humana marcado con éster de acridinio, utilizado para desencadenar la reacción de quimioluminiscencia, que se expresa como URL. Existe una relación directa entre la concentración de anticuerpos IgG y las URL detectadas por el sistema óptico del equipo. El intervalo de medición analítica establecido comprende entre 21 y 40000 AU/mL, y el punto de corte es de 50 AU/mL.

Figura 2. Curva de concentración de anticuerpos IgG [AU/mL] durante los distintos días de extracción: comparación de población femenina y masculina sin infección previa (gráfico 2a) y con infección previa (gráfico 2b).



► 2a. Gráfico de concentración de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 en mujeres y hombres que no contrajeron la infección, en función de los días posteriores a la vacunación. 2b. Gráfico de concentración de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 en mujeres y hombres que contrajeron COVID-19, en función de los días posteriores a la vacunación.

Tabla II. Comparación de concentraciones de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 en la población de mujeres.

Período de posvacunación ^a	Mujeres sin infección (n) ^b	mujeres con infección (n) ^c	Media [AU/mL] (NO) ^d	Media [AU/mL] (SI) ^e	p valor ^f
Día 14	98	74	495,21	1102,42	< 0,0001
Día 42	109	88	2646,47	7900,29	< 0,0001
Día 60	44	31	2036,40	7660,67	< 0,001

► ^a Día de extracción (tomando como día "cero" el de vacunación con la primera dosis de Sputnik V); ^b cantidad de muestras de mujeres que no padecieron la infección (NO) durante los distintos días de extracción; ^c cantidad de muestras de mujeres que sí padecieron la infección (SI) durante los distintos días de extracción; ^d media de concentración de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 de mujeres que no padecieron la infección [AU/mL]; ^e media de concentración de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 de mujeres que padecieron la infección [AU/mL]; ^f p, valor obtenido aplicando test de Mann-Whitney.

Análisis estadístico de los datos

Para el análisis de los datos se utilizó el *software InfoStat* (Di Rienzo y col., 2020). Previamente, se analizó la normalidad con el test de Shapiro - Wilks, y se obtuvo una distribución no homogénea de los mismos por lo cual se decidió aplicar un test no paramétrico para muestras independientes: Mann - Whitney. En todos los casos, el nivel de significancia utilizado fue del 5 %.

Resultados

Las muestras extraídas fueron las siguientes: en el día 14, luego de la primera dosis, se obtuvieron 250 (172 pertenecientes a mujeres y 78 a hombres); en el día 42, se recolectaron 277 (197 de mujeres y 80 de hombres) y, en el día 60, se recolectaron 109 (75 de mujeres y 34 de hombres).

Al analizar los datos y concluir que no poseen una distribución normal (Tabla 1), se decidió aplicar el test de Mann - Whitney, y se obtuvieron los siguientes resultados:

- Se evidenciaron diferencias significativas entre las concentraciones de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 obtenidos los distintos días después de la vacunación entre mujeres que cursaron la infección y mujeres que no la cursaron (Figura 1a) (Tabla 2).
- Al evaluar la concentración de anticuerpos IgG anti-SARS-

CoV-2 obtenidos de hombres que cursaron la infección y hombres que no la cursaron, se vio la existencia de diferencias significativas entre ambas poblaciones los días 14 y 42 después de la vacunación. Sin embargo, este comportamiento no fue el observado en el día 60 tras la vacunación ($p = 0,7904$) (Figura 1b) (Tabla 3).

- No existieron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre las concentraciones de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 en mujeres y hombres que no contrajeron COVID-19 en los distintos días de estudio (Figura 1c) (Tabla 4).
- Al realizar esta misma comparación entre pacientes femeninos y masculinos con infección previa, no se observaron diferencias significativas entre las medias los días 14 y 60 después de la vacunación, a diferencia de lo que ocurrió en el día 42 ($p < 0,05$) (Figura 1d) (Tabla 4).
- Para evaluar el comportamiento de los anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 en los 60 días posteriores a la vacunación, se compararon las medias de pacientes, mujeres y hombres que no padecieron la infección (Figura 2a) (Tabla 5), como también las medias de los que sí la padecieron (Figura 2b), (Tabla 5) los días 14, 42 y 60 después de la vacunación. Se puede ver que, si bien en el día 60 los anticuerpos decaen en todos los casos, en los pacientes masculinos que sí contrajeron la infección, la caída de los anticuerpos es más abrupta, como se observa por las pendientes de los gráficos.

Tabla III. Comparación de concentraciones de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 de varones sin infección vs. varones con infección durante distintos días de extracción.

Período de posvacunación ^a	Varones sin infección (n) ^b	Varones con infección (n) ^c	Media de (NO) ^d [AU/mL]	Media de (SI) ^e [AU/mL]	P valor ^f
Día 14	98	74	582,60	12729,77	0,0143
Día 42	109	88	1941,55	12124,87	< 0,0001
Día 60	44	31	1943,74	3391,54	0,7904

► ^a Día de extracción (tomando como día "cero" el de vacunación con la primera dosis de Sputnik V); ^b cantidad de muestras extraídas en varones que no padecieron la enfermedad (NO) durante los distintos días de extracción; ^c cantidad de muestras extraídas en varones que sí padecieron la enfermedad (SI) durante los distintos días de extracción; ^d media de concentración de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 de varones que no padecieron la enfermedad [AU/mL]; ^e media de concentración de anticuerpos IgG anti SARS-CoV-2 de los varones que padecieron la enfermedad [AU/mL]; ^f p, valor obtenido aplicando test de Mann - Whitney.

Tabla IV. Comparación de concentraciones de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 de mujeres sin infección vs. varones sin infección y de mujeres con infección vs. varones con infección durante distintos días de extracción.

Periodo de posvacunación	Mujeres sin infección (n) ^b	Hombres sin infección (n) ^c	Media de (F) ^d [AU/mL]	Media de (M) ^e [AU/mL]	P valor ^f	Mujeres con infección (n) ^g	Hombres con infección (n) ^h	Media de (F) ⁱ [AU/mL]	Media de (M) ^j [AU/mL]	P valor ^k
Día 14	98	44	495,21	582,60	0,9824	74	34	11028,42	12729,77	0,2417
Día 42	109	46	2646,67	1941,55	0,0895	88	34	7900,29	12124,87	0,0296
Día 60	44	21	2036,40	1943,74	0,3401	31	13	7660,67	3391,54	0,0971

► ^a Día de extracción (tomando como día “cero” el de vacunación con la primera dosis de Sputnik V); ^b cantidad de muestras extraídas en mujeres que no padecieron la enfermedad (F) durante los distintos días de extracción; ^c cantidad de muestras extraídas en varones que no padecieron la enfermedad (M) durante los distintos días de extracción; ^d media de concentración de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 de mujeres que no padecieron la enfermedad (AU/mL); ^e media de concentración de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 de varones que no padecieron la enfermedad (AU/mL); ^f p, valor obtenido aplicando test de Mann - Whitney; ^g cantidad de muestras extraídas en mujeres que padecieron la enfermedad (F) durante los distintos días de extracción; ^h cantidad de muestras extraídas en varones que padecieron la enfermedad (M) durante los distintos días de extracción; ⁱ media de concentración de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 de mujeres que no padecieron la enfermedad (AU/mL); ^j media de concentración de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 de los varones que no padecieron la enfermedad (AU/mL); ^k p, valor obtenido aplicando test de Mann - Whitney.

Discusión

Evidencias de ensayos clínicos han demostrado la inmunogenicidad debida a la eficacia de las vacunas contra la COVID-19²⁴⁻²⁶. Cuantificar los anticuerpos circulantes en individuos inmunizados es uno de los parámetros que permite la formación de distintos criterios de clasificación para conformar diferentes grupos de observación y compararlos. Para el sistema de salud pública, esta información es relevante para gestionar distintas estrategias en la implementación de intervenciones no farmacéuticas, por ejemplo, el uso de plasma de convalecientes como medida terapéutica²⁷ y la fabricación de test serológicos útiles para identificar a la población que ha generado respuesta inmunológica²⁷. Así también, permite establecer lineamientos sobre las medidas de prevención de contagio, las conductas a seguir con pacientes infectados vacunados y los criterios para aplicar en los esquemas de vacunación a futuro.

En este trabajo, presentamos las concentraciones de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 a los 14, 42 y 60 días después de la vacunación con *Sputnik V* en personal de salud del Hospital Rawson de Córdoba. En coincidencia con distintos reportes internacionales, se concluye que los pacientes con infección previa por SARS-CoV-2 presentan concentraciones

de anticuerpos más altas que los que no padecieron la infección²⁴⁻²⁶. Además, comparando mujeres sin infección previa con hombres en la misma situación, se podría establecer que el sexo no sería un factor diferenciador en la producción de anticuerpos ($p > 0,05$ en los días 14, 42 y 60 posteriores a la vacunación).

Realizando esta misma comparación en los pacientes que sí tuvieron la infección, se observa que no existen diferencias significativas en los días 14 y 60 posteriores a la vacunación ($p > 0,05$), a diferencia de lo observado el día 42 después de la vacunación ($p < 0,05$). Si bien, lo expuesto no es coincidente con la bibliografía²⁴⁻²⁶, sería de interés analizar si estos resultados se mantienen en futuras cohortes donde el “n” sea mayor, estableciendo el tiempo después de la infección de los participantes.

Un comportamiento diferente de lo evidenciado en distintos trabajos²⁴⁻²⁶ fue una caída más pronunciada en la media de las concentraciones de anticuerpos en participantes masculinos con infección previa desde el día 42 al 60 con respecto a sus pares femeninos. Este comportamiento debería considerarse para futuras investigaciones con grupos de trabajo más numerosos debido a que el “n” de pacientes masculinos fue menor que el del grupo femenino (13 vs. 31).

Tabla V. Tabla de las medias de concentraciones de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 en mujeres y hombres que no padecieron y sí padecieron la infección en los días 14, 42 y 60 después de la vacunación (AU/mL).

Sexo ^a	Infección previa ^b	DIA 14 [AU/mL] ^c	DIA 42 [AU/mL] ^d	DIA 60 [AU/mL] ^e
Mujeres	NO	497,21	2646,47	2036,4
Mujeres	SI	11028,42	7900,29	7660,67
Hombres	NO	582,6	1941,55	1943,74
Hombres	SI	12729,77	12124,87	3391,54

► ^a Clasificación según sexo de los participantes del estudio; ^b clasificación según si padecieron la COVID-19 o no; ^c media de la concentración de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 el día 14 después de la vacunación para los distintos grupos (AU/mL); ^d media de la concentración de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 el día 42 después de la vacunación para los distintos grupos (AU/mL); ^e media de la concentración de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 el día 60 después de la vacunación para los distintos grupos (AU/mL).

La dinámica de la respuesta inmune humoral frente a la inmunización puede observarse en el grupo de pacientes sin infección previa y, en concordancia con otros autores, se observa un aumento desde el día 14 hasta el 42, con una disminución al día 60.

En pacientes con infección previa, distintos estudios plantean que una dosis de vacunación produce un aumento de anticuerpos tal que la segunda dosis podría posponerse²⁸⁻³¹. Esto también justificaría la vacunación con dos dosis de las personas que no padecieron la enfermedad. De acuerdo con estos estudios, las concentraciones de anticuerpos de pacientes previamente infectados y con una dosis de vacuna, serían comparables con aquellas provenientes de pacientes sin infección previa, con dos dosis de vacuna²⁸⁻³¹. En un estudio realizado en Israel, se observó que 8 pacientes, luego de dos dosis de vacunación con BNT162b2, que posteriormente contrajeron la infección por SARS-CoV-2, alcanzaron concentraciones de anticuerpos comparables a las alcanzadas después de la tercera dosis en la población que no había padecido la infección²⁹. En nuestro estudio, se observó que pacientes con infección previa por SARS-CoV-2, al recibir la primera dosis de *Sputnik V*, no tenían un aumento tal en la concentración de anticuerpos en comparación con pacientes sin infección previa. Esto sería concordante con la bibliografía que señala que la infección previa se comportaría como una dosis de vacunación²⁹⁻³¹.

Cabe destacar que nuestra población en estudio es relativamente pequeña y, por lo tanto, se deberían realizar nuevos trabajos a mayor escala para confirmar estos comportamientos. Además, en este estudio, no se contempló como variable la preexistencia de enfermedades crónicas en la población, así como tampoco comorbilidades preexistentes, lo cual condicionaría la respuesta inmune de cada paciente. Además, dado que la población en estudio incluye personas activas laboralmente, el grupo etario de las personas mayores de 60 años no está representado.

Una variable por considerar sería establecer en pacientes que sí padecieron la infección por SARS-CoV-2 de forma previa a la vacunación, cuánto tiempo antes de la misma ocurrió la infección, ya que el tiempo transcurrido entre el diagnóstico de la enfermedad y la inmunización podría afectar la concentración de anticuerpos debido a la dinámica de generación.

Estudios realizados en Bélgica, demostraron que trabajadores de la salud que desarrollaron anticuerpos contra el SARS-CoV-2 tuvieron menor riesgo de infección que las personas que eran seronegativas^{32,33}. En este sentido, a partir de la campaña de vacunación nacional iniciada en nuestro país, fue de relevancia extrema para el personal de salud de nuestro hospital que recibió el esquema de vacunación inicial completo de *Sputnik V* contar con la valoración de la respuesta inmune humoral.

Es importante destacar los beneficios que este kit (SARS-CoV-2 IgG II Quant) trajo aparejados, ya que la utilización de esta determinación en las prestaciones diarias realizadas

por nuestro laboratorio le brinda al personal médico de nuestro hospital una respuesta rápida y oportuna para el diagnóstico y seguimiento de pacientes que padecen esta infección.

Referencias bibliográficas

1. World Health Organization. WHO coronavirus 2019 (COVID-19) pandemic. [Internet]. Disponible en: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>; 2021.
2. Centers for Disease Control and Prevention. COVID-19. [Internet]. [Consultado 21 ago 2021] Disponible en: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/index.html>.
3. Chavez S, Long B, Koyfman A, Liang SY. Coronavirus Disease (COVID-19): A primer for emergency physicians. *Am J Emerg Med*. 2021;44:220-9.
4. Long MJC, Aye Y. Science's response to CoVID-19. *Chem Med Chem*. 2021;16(15):2288-314.
5. Merad M, Blish CA, Sallusto F, Iwasaki A. The immunology and immunopathology of COVID-19. *Science*. 2022;375(6585):1122-7.
6. Perfil de evolución clínica de las personas internadas con diagnóstico de COVID-19 asistidas en la Provincia de Córdoba. Actualización. Informe correspondiente al periodo del 06 de marzo al 4 de octubre de 2020. Comisión Clínica - Centro de Operaciones de Emergencia Provincia de Córdoba.
7. Adhikari SP, Meng S, Wu Y-J, Mao Y-P, Ye R-X, Wang Q-Z, et al. Epidemiology, causes, clinical manifestation and diagnosis, prevention and control of coronavirus disease (COVID-19) during the early outbreak period: a scoping review. *Infect Dis Poverty*. 2020;9(1).
8. Li T, Wei C, Li W, Hongwei F, Shi J. Beijing Union Medical College Hospital on "pneumonia of novel coronavirus infection" diagnosis and treatment proposal (V2.0). *Med J Peking Union Med Coll Hosp*. 2020.
9. Wastnedge EAN, Reynolds RM, van Boeckel SR, Stock SJ, Denison FC, Maybin JA, et al. Pregnancy and COVID-19. *Physiol Rev*. 2021;101(1):303-18.
10. Li W, Moore MJ, Vasilieva N, Sui J, Wong SK, Berne MA, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*. 2003;426(6965):450-4.
11. Hamming I, Timens W, Bulthuis MLC, Lely AT, Navis GJ, van Goor H. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J Pathol*. 2004;203(2):631-7.
12. Vabret N, Britton GJ, Gruber C, Hegde S, Kim J, Kuksin M, et al. Immunology of COVID-19: Current state of the science. *Immunity*. 2020;52(6):910-41.
13. Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *The Lancet*. 2020;395(10229):1033-4.
14. Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting diagnostic tests for SARS-CoV-2. *JAMA*. 2020;323(22):2249-51.
15. Focosi D, Maggi F, Mazzetti P, Pistello M. Viral infection neutralization tests: A focus on severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 with implications for convalescent plasma therapy. *Rev Med Virol*. 2021;31(2):1-11.
16. Amanat F, Stadlbauer D, Strohmaier S. A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans. *Nat Med*. 2020;26(7):1033-6.
17. Tatsis N, Ertl HCJ. Adenoviruses as vaccine vectors. *Mol Ther*. 2004;10(4):616-29.
18. Logunov DY, Dolzhikova IV, Shchepochalov DV, Tukhvatulin AI, Zubkova OV, Dzharullaeva AS. Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia. *Lancet*. 2021;397:671-81.
19. Lineamientos técnicos y Manual del vacunador [Internet]. Argentina.gov.ar. 2021. Disponible en: <https://www.argentina.gov.ar/coro>

- navirus/vacuna/equipos-salud/lineamientos-manual-vacunador
20. Respuesta frente a la pandemia por SARS CoV 2 en Córdoba: detección de anticuerpos neutralizantes en individuos recuperados en el territorio de la provincia. [Internet]. [Consultado 17 Jul 2020]. Disponible en <https://cordoba.conicet.gov.ar/respuesta-frente-a-la-pandemia-por-sars-cov-2-en-cordoba/>
 21. Universidad de Córdoba, Ministerio de Salud de Córdoba. Determinación de anticuerpos con el equipo comercial SARS-CoV-2 IgG II Quant (Abbott) como marcador subrogante de Anticuerpos Neutralizantes en potenciales donantes de PCC-19.
 22. Empleo de la vacuna Sputnik V en Argentina: Evaluación de respuesta humoral frente a la vacunación. Informe parcial Enero Marzo 2021 Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires, Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación. Instituto Leloir CONICET INBIRS UNLP
 23. Universidad de Córdoba, Ministerio de Salud de Córdoba. Evaluación de la respuesta de anticuerpos neutralizantes a la vacuna Sputnik V en una cohorte en Córdoba y evaluación de las propiedades neutralizantes de anticuerpos naturales y vacunales frente a la variante Manaos. [Internet]. Disponible en: <https://www.cba.gov.ar/informes-vacunacion-covid-19>.
 24. Ebinger JE, Fert-Bober J, Printsev I, Wu M, Sun N, Prostko JC, et al. Antibody responses to the BNT162b2 mRNA vaccine in individuals previously infected with SARS-CoV-2. *Nat Med.* 2021;27(6):981-4.
 25. Anichini G, Terrosi C, Gandolfo C, Gori Savellini G, Fabrizi S, Miceli GB, et al. SARS-CoV-2 antibody response in persons with past natural infection. *N Engl J Med* [Internet]. 2021;[NEJMc2103825]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1056/nejmc2103825>
 26. Manisty C, Otter AD, Treibel TA, McKnight Á, Altmann DM, Brooks T, et al. Antibody response to first BNT162b2 dose in previously SARS-CoV-2-infected individuals. *Lancet.* 2021;397(10279):1057-8.
 27. Tiberghien P, Lamballerie X, Morel P, Gallian P, Lacombe K, Yazdanpanah Y. Collecting and evaluating convalescent plasma for COVID-19 treatment: why and how? *Vox Sang.* 2020;115(6):488-94.
 28. Abu Jabal K, Ben-Amram H, Beiruti K, Batheesh Y, Sussan C, Zarka S, et al. Impact of age, ethnicity, sex and prior infection status on immunogenicity following a single dose of the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine: real-world evidence from healthcare workers, Israel, December 2020 to January 2021. *Euro Surveill.* 2021;26(6):
 29. Ogric M, Žigon P, Podovšovnik E, Lakota K, Sodin-Semrl S, Rotar Ž, et al. Differences in SARS-CoV-2-specific antibody responses after the first, second, and third doses of BNT162b2 in naïve and previously infected individuals: A 1-year observational study in healthcare professionals. *Front Immunol.* 2022- [Internet]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2022.876533>
 30. Ibarrodo FJ, Hofmann C, Fulcher JA, Goodman-Meza D, Mu W, Hausner MA, et al. Primary, recall, and decay kinetics of SARS-CoV-2 vaccine antibody responses. *ACS Nano.* 2021;15(7):11180-91.
 31. Krammer F, Srivastava K, Simon V, the PARIS team. Robust spike antibody responses and increased reactogenicity in seropositive individuals after a single dose of SARS-CoV-2 mRNA vaccine [Internet]. *bioRxiv.* 2021. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1101/2021.01.29.21250653>
 32. Naesens R, Mertens H, Clukers J, Herzog S, Brands C, Vets P, et al. SARS-CoV-2 seroprevalence survey among health care providers in a Belgian public multiple-site hospital. *Epidemiol Infect.* 2021;149(e172).
 33. Scohy A, Gruson D, Simon A, Kabamba-Mukadi B, De Greef J, Belkhir L, et al. Seroprevalence of SARS-CoV-2 infection in health care workers of a teaching hospital in Belgium: self-reported occupational and household risk factors for seropositivity. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2021;100(4):115414.

GUÍA DE REVISIÓN

Recomendaciones del laboratorio clínico en el estudio de las proteínas séricas a partir del proteinograma electroforético

Recommendations for the clinical laboratory for the study of serum proteins from the electrophoretic proteinogram

Arco, Silvia Estela¹; Baquío, María Isabel²; Bovone, Nora Silvia³; Crispiani, Isabel Amalia³; De Marco, Beatriz⁵; Desimone, Isabel Viviana⁶; Factorovich, Adriana Marcela⁷; Fernández, Diego Javier⁸; García, Mónica Alicia⁹; Giani, Miriam Patricia³; Lorenzon, María Victoria¹⁰; Lunazzi, Graciela¹¹; Madalena, Leticia Bibiana¹²; Nieves Luciano David⁶; Osatinsky, Raquel¹³; Pijuan, María Carla¹⁴; Ríos, María de Lourdes¹⁵; Santoro, Silvina Andrea⁵; Tavella de Del Río, Ofelia¹⁶

¹Laboratorio Hidalgo. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

²Instituto de Bioquímica Clínica. Rosario, Santa Fe, Argentina.

³Laboratorio de Proteínas y Autoinmunidad, Hospital Nacional Profesor Alejandro Posadas. El Palomar, Buenos Aires, Argentina.

⁴Laboratorio Pérez Crispiani. La Plata, Buenos Aires, Argentina.

⁵Laboratorio Central, Hospital Interzonal General de Agudos General San Martín. La Plata, Buenos Aires, Argentina.

⁶Hospital Interzonal General de Agudos Evita. Lanús, Buenos Aires, Argentina.

⁷Laboratorio Central. Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

⁸Laboratorio Central, Hospital General de Agudos Dr. Cosme Argerich. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

⁹Laboratorio Bioquímico Dra. García. Castelar, Buenos Aires, Argentina.

¹⁰Laboratorio Central. Hospital Italiano. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

¹¹Hospital Interzonal General de Agudos Dr. Paroissien. Isidro Casanova, Buenos Aires, Argentina.

¹²Laboratorio de Proteínas, Hospital de Clínicas, José de San Martín, Universidad de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

¹³Laboratorio Manlab. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

¹⁴Instituto de Análisis Fares Taie. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

¹⁵Laboratorio Central, Hospital General de Agudos Carlos G. Durand. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

¹⁶Laboratorio Central, Hospital Militar Central Cirujano Mayor Dr. Cosme Argerich. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

*Contacto: Fernández, Diego Javier; Laboratorio Central, Hospital General de Agudos Dr. Cosme Argerich; Pi y Margall 750, C1155 AHD, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina; fdjfrey84@gmail.com

Resumen

Introducción: El laboratorio clínico de proteínas es uno de los pilares para la caracterización, el diagnóstico y el monitoreo de diversas patologías. Sin embargo, ante la heterogeneidad observada tanto en las metodologías utilizadas como en la confección del informe de los estudios proteicos en la encuesta realizada durante los años 2018 -2019 en nuestro país, surge, desde el Foro de Proteínas, la necesidad de redactar las primeras recomendaciones sobre prácticas de laboratorio de proteínas. **Objetivo:** Crear una directriz como primer paso para armonizar la detección inicial y la medición cuantitativa de proteínas monoclonales. **Materiales y Métodos:** En el Foro de Proteínas, con sede en la Asociación Bioquímica Argentina, se generó un ámbito de discusión donde los profesionales especialistas en el área de Proteínas nos reunimos periódicamente para consensuar criterios que puedan ser utilizados como herramientas en la transmisión de resultados clínicamente útiles. **Resultados:** Estas recomendaciones recopilan consensos sobre la etapa pre-analítica, analítica y posanalítica y brindan información valiosa sobre el tipo de muestra, interferencias, metodologías disponibles, análisis e informe de resultados. **Conclusiones:** Estas recomendaciones, que son las primeras en el ámbito nacional, se redactaron para armonizar y fortalecer la detección inicial de una proteína M en pacientes que muestran síntomas o características de laboratorio de una gammapatía monoclonal. Se pudieron desarrollar mediante el consenso profesional, con el propósito de unificar criterios tanto metodológicos como de presentación de resultados.

Palabras clave: proteinograma electroforético, consenso, informe.

Abstract

Introduction: The clinical protein laboratory is one of the pillars for the characterization, diagnosis and monitoring of various pathologies. However, given the heterogeneity observed both in the methodologies used and in the preparation of the report of protein studies in the survey carried out during the years 2018-2019 in Argentina, the need arises, from the Protein Forum, to write the first consensus on protein laboratory practices. **Objective:** To present the first clinical laboratory practice guide for the study of serum proteins from the electrophoretic proteinogram. **Materials and Methods:** The Protein Forum, based on the Argentine Biochemical Association, generated a forum for discussion, where professional specialists in the Protein area meet periodically to agree on criteria that can be used as tools in the transmission of clinical results. **Results:** These recommendations compile consensus on the preanalytical, analytical

and post-analytical stage, providing valuable information on the type of sample, interference, available methodologies, and analysis and report of results. Conclusions: These first national recommendations for the unification of both methodological and results presentation criteria was developed through professional consensus.

Key words: electrophoretic proteinogram, consensus, report.

Introducción

El Foro de Proteínas con sede en la Asociación Bioquímica Argentina constituye desde el año 2007 un ámbito de discusión donde los profesionales especialistas en el área de proteínas nos reunimos periódicamente para consensuar criterios que puedan ser utilizados como herramientas en la transmisión de resultados clínicamente útiles.

Diversas sociedades científicas que se dedican al estudio de las gammopatías monoclonales (GM) como, por ejemplo, el International Myeloma Working Group publican periódicamente estrategias de trabajo consensuadas por especialistas tanto para el diagnóstico como para el monitoreo de las GM¹. Estos documentos contienen actualizaciones de los criterios diagnósticos, paneles de *screening* y metodologías de trabajo recomendadas. Sin embargo, la ausencia de propuestas específicas con respecto al reporte de los estudios proteicos séricos y urinarios genera una gran variabilidad en los informes emitidos por diferentes laboratorios. Trabajando en la búsqueda de consensos, tanto la Asociación de Bioquímica Clínica Australiana como la Sociedad Canadiense de Química Clínica han aportado en la última década valiosas recomendaciones, a las que se suman recientemente las generadas por el Colegio Americano de Patólogos, con el objeto de estandarizar el informe del proteínograma electroforético (PE).^{2,3}

La falta de consensos en el ámbito nacional sobre cómo informar los estudios proteicos séricos y urinarios nos obliga a los profesionales del área a recabar información acerca de las técnicas utilizadas, la nomenclatura y el diseño del informe de resultados en nuestro país. Esto nos llevó a plantearnos como primer objetivo evaluar en el ámbito nacional, durante los años 2018 - 2019, el estado del arte en lo concerniente a metodologías y contenidos de informe para el estudio de GM.⁴

Desde el Foro de Proteínas, se invitó a los laboratorios bioquímicos clínicos de la República Argentina tanto del ámbito público como privado a participar de una encuesta voluntaria y anónima con el objetivo de confeccionar las primeras recomendaciones del laboratorio clínico en el estudio de las proteínas séricas a partir del proteínograma electroforético. Con la recopilación y el análisis de los datos obtenidos, se ha avanzado en la construcción del presente documento cuyo objetivo es crear directrices de prácticas del laboratorio clínico en el estudio de las proteínas séricas, a partir del proteínograma electroforético, para establecer las primeras recomendaciones argentinas sobre las fases preanalítica, analítica y posanalítica del proteínograma electroforético sérico (PES), la expresión de los resultados y comentarios interpretativos basados en la utilidad clínica de la separación electroforética de las proteínas plasmáticas presentes en el suero.

Materiales y Métodos

Las presentes recomendaciones fueron desarrolladas por bioquímicos pertenecientes al Foro Argentino de Proteínas. Los autores se reunieron mensualmente, de forma plenaria, durante el año 2019 en la Asociación Bioquímica Argentina, mientras que, durante los años 2020, 2021 y 2022, las reuniones se realizaron de forma virtual.

La metodología utilizada para la elaboración de estas *Primeras recomendaciones del laboratorio clínico en el estudio de las proteínas séricas a partir del proteínograma electroforético* consistió en la búsqueda bibliográfica de trabajos de diferentes lugares relacionados con las etapas preanalítica, analítica y posanalítica para la realización del proteínograma. Se revisaron consensos escritos por otros países como Nueva Zelanda, Canadá y España.^{2,3,5}

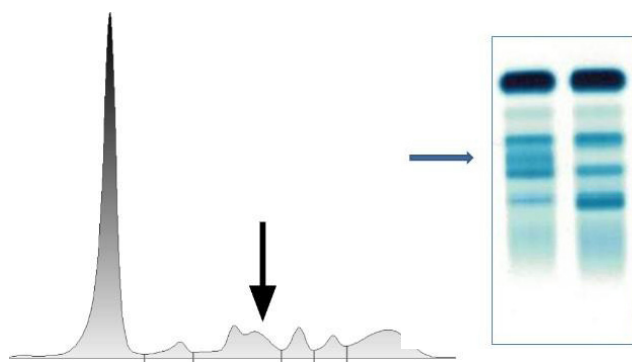
La difusión de este documento tiene por objeto divulgar los aspectos metodológicos y de formato de informe recomendados para la electroforesis de proteínas, con la finalidad de que puedan ser utilizados por todos los laboratorios del país en pos de la armonización.

1. Aspectos preanalíticos para la realización de proteínogramas

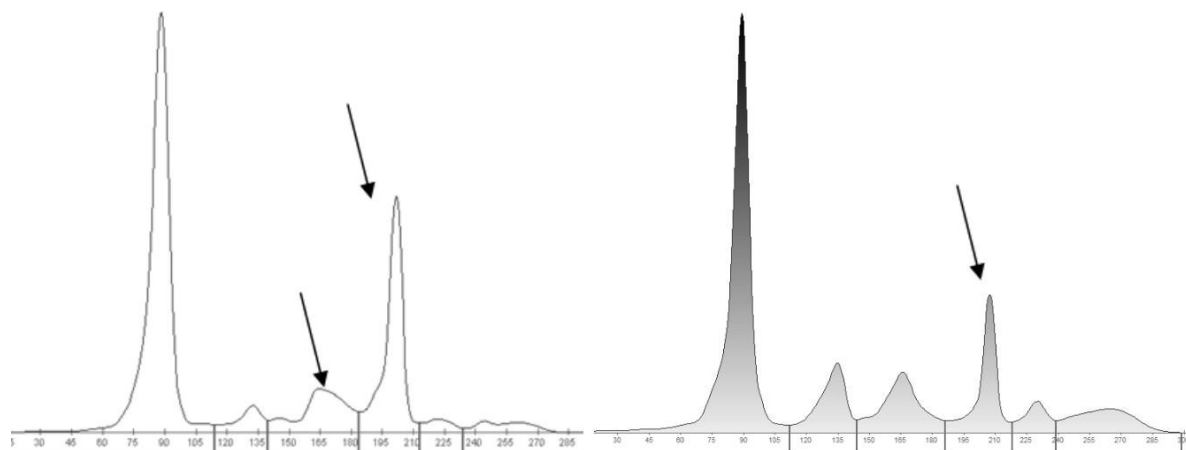
1.1. Tipo de muestra

La muestra de elección para el estudio electroforético de las proteínas es el suero fresco. Esta debe ser obtenida por venopunción y colocada en el interior del tubo, sin anticoagulante, hasta que se produzca la coagulación completa. En caso de realizar una centrifugación previa sin que se haya completado la formación del coágulo, puede observarse la deformación

Figura 1. Proteínograma electroforético en soporte líquido (izq.) y en gel de agarosa (der.)



► Izquierda: corresponde a muestra con moderada hemólisis. Se observa desdoblamiento de la fracción α -2; derecha: corresponde a muestra con hemólisis. Se observa aparición de una banda homogénea entre α -2 y β -1.

Figura 2. Proteinograma electroforético en soporte líquido.

► Curva izquierda: corresponde a muestra con abundante hemólisis. Se observa desdoblamiento de la fracción α -2 y aumento de fracción β -1 correspondiente esta última a la presencia de hemoglobina libre. Curva derecha: corresponde a presencia de componente monoclonal con migración en fracción β -1.

de la fracción β -2 o la presencia de una banda homogénea en gamma rápida por la presencia de fibrinógeno.⁵

1.2. Ayuno

Se recomienda que la extracción de la muestra se realice con un ayuno previo de 8 horas, para evitar la interferencia por hiperlipemia [“Apartado 1.4.1.”], principalmente cuando se utiliza como soporte gel de agarosa.

1.3. Estabilidad y temperatura de conservación de la muestra

Es recomendable la separación del suero del paquete globular después de la centrifugación, lo antes posible. La estabilidad a temperatura ambiente [20-25 °C] es de un día. Se puede conservar la muestra hasta 7 días a 4-8 °C o hasta 3 semanas a -20 °C.⁵

En caso de necesitar conservar la muestra congelada para posterior análisis, se recomienda realizar alícuotas y que la misma no sufra más de un proceso de congelación/descongelación, ya que puede presentar una degradación *in vitro* de las proteínas del complemento y, en consecuencia, una disminución de la fracción β -2-globulinas.

Se recomienda que el procesamiento se realice cuando la muestra se encuentre entre 18 y 24°C.

1.4. Interferencias

1.4.1. Lipemia

Las lipoproteínas migran en diferentes posiciones, dependiendo de la técnica electroforética que se utilice: en soporte sólido, suelen migrar en la zona de las alfa y beta globulinas, aunque, en electroforesis capilar, suele verse un incremento de la zona posalbúmina. El aumento de la concentración hallada en los sueros hiperlipémicos puede dificultar la interpretación cuando se observa una zona beta aumentada o hasta hacer sospechar de un componente monoclonal cuando se utiliza soporte sólido.

Se sugiere no trabajar con sueros hiperlipémicos. En caso de no poder solicitar nueva muestra o esperar a que el paciente resuelva la hiperlipemia, siempre aclarar que se trabajó con un suero lipémico.⁵

1.4.2. Hemólisis

Los complejos haptoglobina - hemoglobina formados durante la hemólisis *in vitro* pueden originar un desdoblamiento o ensanchamiento de la fracción α -2. La presencia de hemoglobina libre en el suero también puede provocar estas mismas alteraciones en la fracción β -1. Por este motivo, se recomienda trabajar con sueros sin hemólisis. En caso de no poder solicitar nueva muestra, siempre aclarar que se trabajó con un suero con presencia de hemólisis [Figura 1 y 2].⁵

1.4.3. Fibrinógeno

La administración de medicamentos anticoagulantes puede motivar la presencia de fibrinógeno en el suero. No se deben procesar muestras que hayan sido extraídas en tubos con algún tipo de anticoagulante. En el caso de poder confirmar la presencia de fibrinógeno, se debe aclarar la presencia del mismo y sugerir repetición del estudio con una nueva muestra de suero [Figura 3].^{5,6}

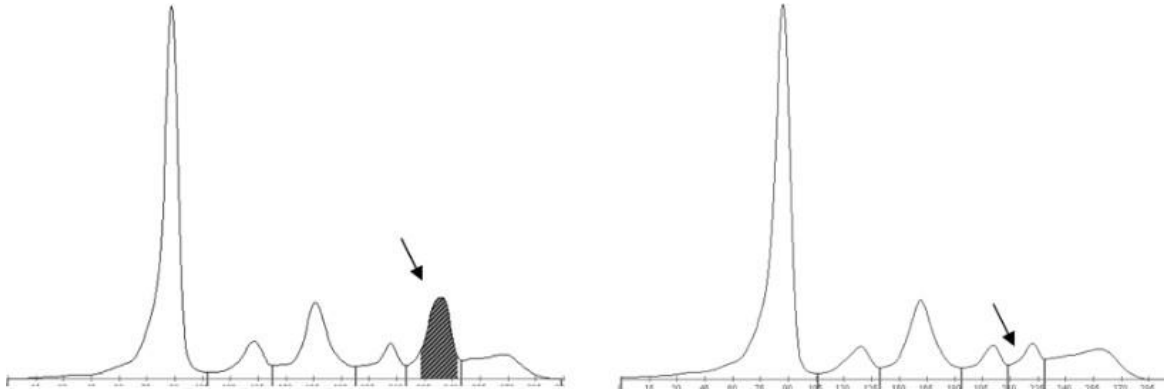
1.4.4. Compuestos radiopacos y medicamentos

La administración intravenosa de contrastes químicos utilizados en diferentes técnicas de imágenes puede ocasionar la aparición de una banda adicional en las fracciones α -2 o β -globulinas emulando componentes monoclonales, si la corrida se realiza en equipos de electroforesis capilar que detectan proteínas con lecturas a 200 nm. Algunos antibióticos también pueden originar este tipo de interferencias. Estas sustancias no afectan en corridas en soportes sólidos, donde el método de detección es mediante la utilización de colorantes. De sospechar o confirmar la presencia de un interferente de este tipo, se debe incluir una leyenda y solicitar nueva muestra de suero teniendo en cuenta la vida media de los componentes en cuestión.^{6,7}

1.4.5. Anticuerpos monoclonales de terapéutica

[daratumumab, elotuzumab, etc.]

El tratamiento con anticuerpos monoclonales puede ser el origen de una interferencia en la fracción gamma-globulinas,

Figura 3. Proteinograma electroforético en soporte líquido.

► Curva izquierda: muestra remitida con heparina de sodio. Se observa presencia de fibrinógeno en fracción β -2. Curva derecha: muestra remitida en tubo sin anticoagulante. Ambas muestras corresponden al mismo paciente.

dependiendo de la dosis y el régimen de administración. Todos los laboratorios deben conocer a sus pacientes tratados con este tipo de terapia para evitar malas interpretaciones de los análisis a realizar.⁵ De tener conocimiento de la presencia de alguno de estos componentes terapéuticos, es necesario poner una leyenda que advierta de su presencia en el perfil del proteinograma electroforético (Figura 4).

1.4.6. Crioglobulinas

Si se ha llevado a cabo en frío, en la electroforesis de proteínas en soporte sólido, puede observarse acumulación en el sitio de aplicación, que recrea la presencia de un “pico monoclonal”. En la situación de tener un diagnóstico de crioglobulinas positivas, dichas muestras deben sembrarse a 37°C al momento de procesarlas.

2. Aspectos sobre la metodología para realizar el proteinograma electroforético

2.1. Tipos de soportes

Los dos tipos de electroforesis utilizados para la separación de las proteínas plasmáticas presentes en el suero son: electroforesis en soporte sólido y electroforesis capilar.

2.1.1. Electroforesis en soporte sólido

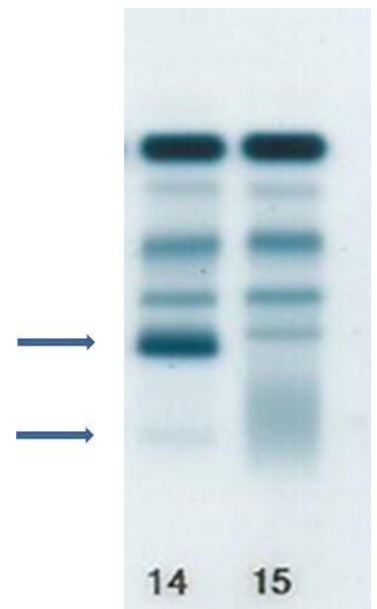
La capacidad de resolución y la sensibilidad analítica de esta metodología dependen del soporte y colorante utilizados⁸. En la práctica clínica, se utilizan habitualmente dos tipos de soporte: acetato de celulosa y gel de agarosa.

El acetato de celulosa está siendo paulatinamente reemplazado por métodos con mayor resolución como los geles de agarosa y la capilaridad; estos dos últimos métodos son los recomendados por el Grupo Internacional de Trabajo en Mieloma Múltiple (IMWG) para el estudio de gammapatías monoclonales.

Cualquiera sea el colorante utilizado, deben tenerse en cuenta dos posibles fuentes de error: la heterogénea captación de colorante por unidad de masa entre las distintas fracciones proteicas y la pérdida de linealidad de la fijación del colorante en relación con la concentración de la proteína.

2.1.2. Electroforesis capilar

Todas las proteínas migran a distinta velocidad, en función de su relación carga/masa, hacia un detector que mide la absorbancia del enlace peptídico a 200 o 214 nm; esta absorbancia es proporcional al número de uniones peptídicas. La lectura directa de las fracciones proteicas evita el error por saturación de unión al colorante observado en las técnicas sobre soporte sólido, especialmente para componentes monoclonales (CM) de altas concentraciones.

Figura 4. Proteinograma electroforético en soporte de gel de agarosa.

► Calle 14: corresponde a paciente con mieloma múltiple tratado con daratumumab. En el proteinograma, se observa la presencia del componente monoclonal de la patología en fracción β -2 y la presencia del componente monoclonal utilizado para la terapia, con movilidad en zona gamma lenta.

2.2. Requisitos analíticos del proteinograma electroforético

La separación electroforética de las proteínas plasmáticas presentes en el suero se considera adecuada para los fines diagnósticos, cuando se cumplen requisitos mínimos de calidad resolutive en el perfil proteico obtenido⁹. Estos incluyen:

- visualización de banda tenue de prealbúmina
- detección de heterocigosis de alfa-1-antitripsina
- desdoblamiento de la zona de beta globulinas en beta-1 y beta-2
- detección de CM de concentración igual o menor que 1 g/L (0,1 g/dl)
- identificación de perfil oligoclonal en la zona gamma

2.3. Precisión de medida

Teniendo en cuenta la variabilidad biológica, se han establecido especificaciones de calidad analítica para la imprecisión para las distintas fracciones del proteinograma. Los valores de imprecisión deseables, expresados como coeficientes de variación para las distintas fracciones, son de 1,6 % para la albúmina; 5,7 % para alfa-1-globulinas; 5,2 % para alfa-2-globulinas; 5,1 % para beta globulinas y 7,3 % para gammaglobulinas.

Debido a la complejidad para cumplir las especificaciones deseables en la fracción albúmina, se puede optar por cumplir el requisito de mínima de 2,3 %.

La imprecisión interensayo descrita para los equipos de electroforesis capilar actuales es menor que 2 % para la albúmina y que 7,7 % para el resto de las fracciones. En la electroforesis en gel de agarosa, la imprecisión varía desde el 2,7 % al 8,0 %.⁹

Debido a que las fracciones del proteinograma deben expresarse como concentraciones de masa (g/L o g/dL), es necesario conocer la concentración de proteínas totales. Por lo tanto, la incertidumbre de medida de la concentración de proteínas totales se suma a la asociada a la electroforesis.¹⁰

Respecto de la cuantificación del CM, a la incertidumbre de su medida contribuyen: la imprecisión de medida de la fracción proteica, la imprecisión del valor de proteínas totales y la imprecisión asociada al acotamiento del CM en el perfil electroforético. En el caso de CM de baja concentración, la delimitación de los puntos de corte es un factor importante de error.

Según datos bibliográficos, la imprecisión oscila entre 11 - 29 % en geles de agarosa y entre 10 - 16 % en electroforesis capilar para CM mayores que 0,1 g/dL (1g/L)¹⁰. Para minimizar el error debido al acotamiento del CM, es aconsejable realizar el seguimiento siempre de la misma forma.

2.4. Valores de referencia

Los valores de referencia de la separación de proteínas en fracciones proteicas varían de acuerdo con la metodología utilizada y la población en estudio. El laboratorio debe disponer y dejar asentados en el informe los valores de referencia específicos discriminando por rango etario.

Si comparamos los rangos de referencia para los dos tipos de métodos electroforéticos mencionados, vemos que existe una buena correlación entre las fracciones, pero se presentan diferencias significativas en la fracción alfa-1-globulinas y, en menor medida, en la fracción albúmina^{9,10,11}. Estas diferencias se deben al principio de medida de las proteínas (unión a colorantes o absorbancia a 214 nm).

Para la zona alfa-1-globulinas, la electroforesis capilar pre-

senta valores superiores a los obtenidos por electroforesis sobre soporte sólido. Esto se debe a que la alfa-1-antitripsina es prácticamente la única proteína de la fracción que se une al colorante, ya que la alfa-1-glicoproteína presenta un alto contenido de ácido siálico, que disminuye la afinidad por los colorantes. En el caso de la albúmina, debido a que esta proteína presenta una alta afinidad por el colorante, los resultados obtenidos en gel de agarosa son aproximadamente un 10 % superiores a los obtenidos por capilaridad.

3. Aspectos sobre el informe del proteinograma sérico

Se recomienda el siguiente contenido:

- Identificación de la prueba en el informe clínico:
Título: *Proteinograma sérico*
Método: Electroforesis en acetato de celulosa/electroforesis en gel de agarosa/electroforesis capilar
- Número de fracciones: Se informarán las fracciones de acuerdo con el sistema empleado:
-Cinco fracciones: Alb/ α 1/ α 2/ β / γ
-Seis fracciones: Alb/ α 1/ α 2/ β 1/ β 2/ γ
- Unidades: Las fracciones proteicas deben informarse en unidades de concentración. Estas unidades deben ser las mismas que las del dosaje de proteína total. Pueden expresarse en g/L o g/dL. Opcionalmente, puede acompañarse este resultado de los valores porcentuales de cada una de las fracciones.
- Valores de referencia (VR): Deben constar en el informe los VR correspondientes al grupo etario del paciente tanto de los porcentuales como del valor absoluto. Las fuentes de los VR pueden provenir de estimaciones del propio laboratorio, búsqueda bibliográfica (verificada en el laboratorio) o de la otorgada por el fabricante (verificada en el laboratorio).
- Curva densitométrica: Es opcional. No se considera indispensable a los efectos interpretativos, si se respetan los contenidos recomendados.
- Informe interpretativo: Debe proveer información sobre hallazgos relevantes en el proteinograma y sugerir otros estudios, en caso de que se requieran.
En caso de que ninguna fracción proteica se encuentre alterada, es opcional el comentario global. Se puede informar: *perfil sin particularidades*. En cambio, si alguna de las fracciones se encuentra alterada, se recomienda realizar un comentario descriptivo adjunto al proteinograma.

Ejemplos:

- Hipoalbuminemia
- α 1 marcadamente disminuida
- Hipergammaglobulinemia policlonal
- β 2 marcadamente disminuida
- Hipogammaglobulinemia
- Fracciones α 1 y α 2 aumentadas

En caso de observarse una banda en zona de gammaglobulinas, se sugiere utilizar el término *banda homogénea* (BH) y se debe describir la movilidad, es decir, si la banda corre en zona rápida, media o lenta de gammaglobulinas. También debe cuantificarse la banda homogénea en estudio; utilizarse las mismas

Tabla I. Casos asociados a oligoclonalidad.**Infecciones agudas o crónicas recurrentes**

- Hepatitis
- HIV-SIDA
- Enfermedades por depósito de complejo inmune circulante
- Enfermedades autoinmunes
- Neoplasias
- Síndrome de Guillain-Barré
- Neuropatía periférica
- Trasplantes

unidades que para las distintas fracciones proteicas; aclarar por qué método se realizó la cuantificación (tangencial/a línea de base) y sugerir estudios complementarios necesarios. Cabe aclarar que la cuantificación de la banda homogénea debe realizarse siempre por el mismo método.

Se desaconseja fuertemente utilizar terminología ambigua para describir la banda anómala, tal como *restricción electroforética*, *condensación*, *distorsión*, *componente M*, *proteína M*, *banda monoclonal*. A continuación, presentamos un ejemplo de informe adecuado:

Se observa banda homogénea en zona (rápida/media/lenta) de γ globulinas. Medida de la banda por (método tangencial/a línea de base): xx,x g/dl (g/l). Se sugiere completar su estudio por inmunofijación sérica, cuantificación de inmunoglobulinas totales y de cadenas livianas libres (CLL) en suero; así como también estudios en orina de 24 horas (electroforesis e inmunofijación).

4. Aspectos sobre oligoclonalidad

Las disgamaglobulinemias oligoclonales pueden confundirse con las gammapatías monoclonales.¹²

La presencia de esta patente suele estar relacionada con complejos inmunes circulantes contra antígenos extraños, am-

bientales o autoantígenos. La oligoclonalidad se observa principalmente en infecciones crónicas, enfermedades autoinmunes, enfermedades por inmunocomplejos, hepatitis crónicas, algunos estadios de pacientes VIH positivos, en trasplantes o en tratamiento con quimioterapia de inducción en pacientes con mieloma múltiple (Tabla I).^{12,13}

La oligoclonalidad es una patente proteica que, en el proteinograma, tiene dos formas de presentación: como varias bandas o como una zona de mayor condensación en la región de gammaglobulinas.

La importancia de diferenciar la patente oligoclonal de la monoclonal radica en el hecho de que una confusión entre ambas se traduce en tratamientos completamente distintos. Por ello, es sumamente importante tener conocimiento de la presentación clínica, del diagnóstico presuntivo y de otros parámetros bioquímicos del paciente en estudio.¹⁴

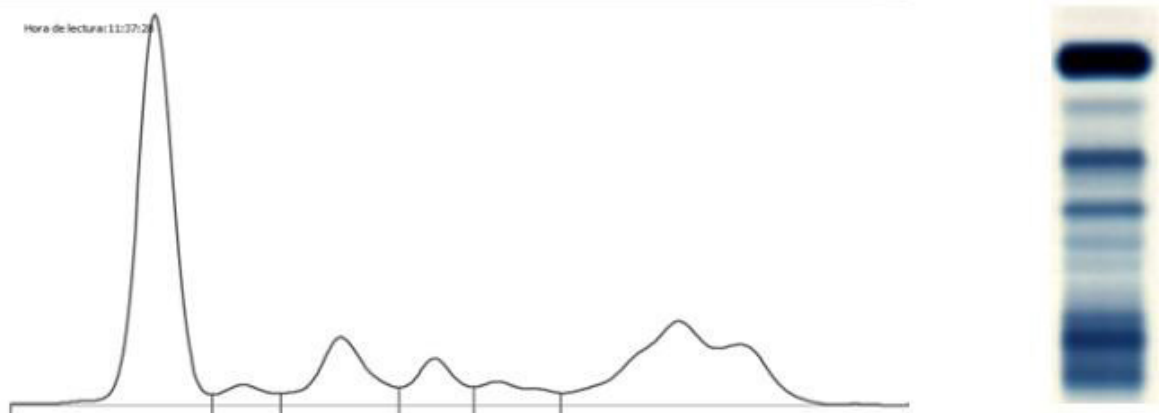
Frente a la sospecha de una patente oligoclonal en el proteinograma electroforético, se podría completar el estudio cuantificando las inmunoglobulinas (por turbidimetría y/o nefelometría), realizar inmunofijación para descartar monoclonalidad (en el caso en que la imagen presente dudas) y, además, observar si hay presencia de crioglobulinas en el suero. En la inmunofijación sérica, se verá reacción con uno o varios de los antiseros anticadenas pesadas y livianas. También es aconsejable tener una alícuota del suero congelada para evaluar y comparar posteriores corridas electroforéticas y observar presencia o ausencia de alguna de las bandas.

Adicionalmente, se recomienda sugerir el estudio por inmunofijación y el control periódico para observar la evolución de la respuesta inmune expresada por la patente oligoclonal.

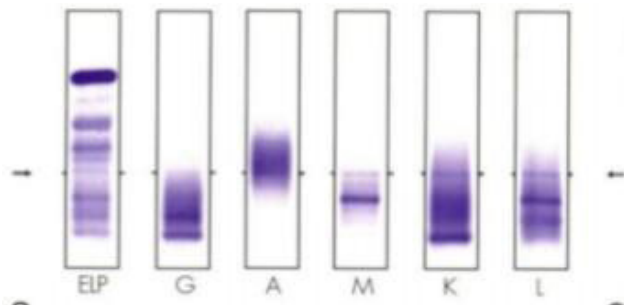
El control periódico de los pacientes que presentan una disgamaglobulinemia debe realizarse con las mismas metodologías para que los resultados sean comparables.¹²⁻¹⁴

4a) Informe de la oligoclonalidad en el proteinograma

Se sugiere informar de la siguiente manera: *Se observa región de gammaglobulinas con características oligoclonales. Se sugiere control periódico.* (Figura 5)

Figura 5. Proteinograma electroforético en soporte líquido (izq.) y en gel de agarosa (der.)

► Izquierda: paciente pediátrico. Derecha: paciente adulto. En ambos se observa zona gamma con patente oligoclonal.

Figura 6. Inmunofijación en suero.

► Se observa presencia de patente oligoclonal correspondiente a componentes de los isotipo IgM lambda, IgG lambda e IgG kappa.

4 b) Informe de la oligoclonalidad en la inmunofijación

Se sugiere informar: *Inmunofijación compatible con características oligoclonales* y de forma opcional, describir calle por calle y luego, escribir un comentario final. (Figura 6)

4c) Oligoclonalidad post - trasplante autólogo de médula ósea (TAMO) en pacientes con mieloma múltiple (MM).

La presencia de bandas oligoclonales (BO) dificulta el monitoreo de la concentración del componente monoclonal (CM) del paciente con MM sometido a TAMO. Suele observarse en la evolución que, frente a la desaparición de las BO, los pacientes recuperan los niveles de inmunoglobulinas policlonales, con ausencia del componente monoclonal original confirmada por inmunofijación.¹⁵

También es importante remarcar si se observa el componente monoclonal original o no, ya que ayuda en el seguimiento del paciente.

En la electroforesis, el registro de la localización del componente homogéneo original resulta fundamental, ya que facilita el reconocimiento de bandas oligoclonales en el postrasplante de médula ósea. El hecho de reconocer que la ubicación de la nueva banda es diferente de la banda monoclonal original, a pesar de que la banda oligoclonal sea del mismo isotipo que el componente monoclonal original, permite determinar que representa una inmunoglobulina benigna y regenerativa en lugar de una recurrencia o persistencia de un clon maligno (Figura 7).¹⁶

Además, se ha visto que en los pacientes que presentaron bandas oligoclonales en su evolución, el tiempo de supervivencia global observado fue significativamente más prolongado, por lo que se lo ha considerado un marcador pronóstico favorable. De allí, la importancia de su descripción en el proteinograma y la necesidad de comunicarlo en el informe.¹⁷

Por otro lado, en presencia de valores aumentados de la zona de γ -globulina del proteinograma electroforético con BO, puede ser observada una relación de cadenas livianas libres anormal, lo que dificulta la valoración de una respuesta completa estricta. Es por ello que su seguimiento cercano es esencial debido a la dificultad adicional en la interpretación de los estudios proteicos, cuando se evalúa la respuesta terapéutica y la evolución.¹⁸

5. Aspectos sobre el análisis del componente monoclonal

5.1. Cuantificación del CM^{2,19-22}

Ante la presencia de una banda homogénea en el proteinograma, se debe registrar su movilidad y cuantificarla por medida directa del perfil electroforético (densitometría para electroforesis sobre soporte sólido o espectrofotometría para electroforesis capilar).

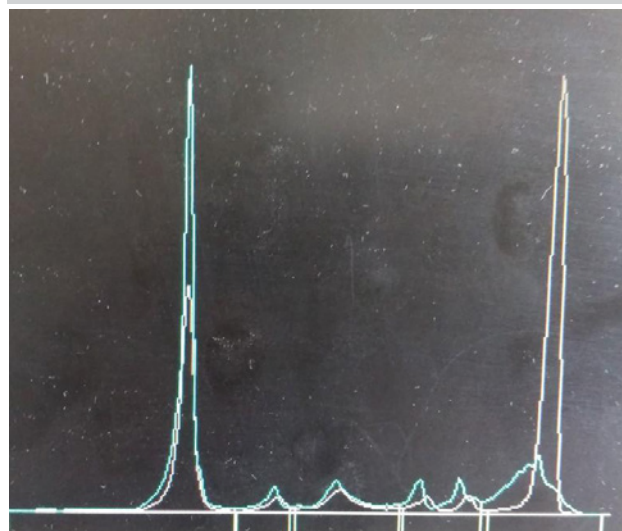
Desde hace décadas, y hasta el día de la fecha, se usa la demarcación perpendicular de pico a línea de base, a pesar de ser un método subjetivo, dependiente del operador y sujeto a la sobreestimación por las inmunoglobulinas presentes en el fondo policlonal.

La cuantificación del pico monoclonal presenta diversas fuentes de error, que deben ser tenidas en cuenta y que varían de acuerdo con la técnica utilizada y su movilidad electroforética. Se presentan dificultades en la medida del CM en:

- zona gamma sobre fondo policlonal
- zona no gamma
- presencia de CM polimerizados
- CM con patrón de migración ancho
- subestimación del CM por saturación del colorante para electroforesis en soporte sólido

Las diferentes estrategias para optimizar la medida del CM van desde modificar la delimitación del pico hasta incluir otras metodologías que permitan la exclusión de las inmunoglobulinas policlonales y de otras proteínas normales presentes en esa fracción, a saber:

- Medida inmunoquímica de la inmunoglobulina involucrada por inmunonefelometría o inmunoturbidimetría, información que reemplaza o complementa la medida del CM.
- Uso del método tangencial para delimitar el CM, que excluye el fondo policlonal. Hasta ahora, esta opción se usa solo para zona gamma.

Figura 7. Superposición de corridas electroforéticas.

► Se observa la superposición de una corrida con componente monoclonal original (amarillo) y corrida posterior a TAMO (trasplante autólogo de médula ósea) con múltiples bandas homogéneas (celeste).

- En el caso de trabajar con electroforesis capilar, se puede recurrir a la inmunosustracción para seleccionar una zona de interés en la región beta de modo que se excluyan así otras proteínas presentes en esa fracción.

En todos los casos, se hace imprescindible aclarar la metodología utilizada para demarcar el pico de proteína monoclonal y se debe recomendar hacer seguimiento con el mismo método.

5.1.1. Cuantificación de CM en zona no gamma^{2,19-22}

5.1.1.1 Limitaciones para la cuantificación de pico

En diferentes situaciones donde la cuantificación del CM es compleja (por su baja concentración, por estar superpuesto con otras proteínas o por no observarse una clara individualización dentro de un perfil oligoclonal), cada laboratorio decide reportar el CM de forma cuali o cuantitativa. En caso de no realizar la cuantificación, es recomendable aclarar la causa y, eventualmente, sugerir estudios complementarios.

La cuantificación y seguimiento de un CM en zona alfa, beta o beta - gamma, representan un desafío para el laboratorio de proteínas. Frecuentemente, corresponden a CM de tipo IgA, aunque, ocasionalmente, otros isotipos migran también en zona no gamma.

Mientras que la cuantificación del CM por delimitación de pico sobreestima por la presencia de proteínas que migran conjuntamente en dicha zona (ej. Transferrina, C3), la cuantificación por inmunoquímica mide el total de inmunoglobulina (monoclonal + policlonal). Tanto la nefelometría como la turbidimetría sobreestiman para todos los isotipos, pero presentan, en general, buena concordancia para IgA. Para CM a IgG mayor que 3,0 g/dl, se produce subestimación de pico por saturación de colorante. En el caso de IgM, la discordancia es mayor: usualmente, IgM por inmunoquímica es 1,8 veces mayor que el valor de pico. Por lo expuesto, los resultados por ambas metodologías no son intercambiables y debe consignarse en el informe cuál se utilizó.

Teniendo en cuenta las limitaciones de cada técnica, se proponen diferentes alternativas:

- Cuantificación inmunoquímica de la inmunoglobulina comprometida. En el año 2014, el IMWG recomienda el monitoreo de CM IgA que migran en zona beta por medida de IgA total en vez de delimitación de pico. El dosaje de *Heavy Light Chain* (HLC) es un método que permite cuantificar por separado los diferentes tipos de cadenas ligeras de cada clase de inmunoglobulina (por ejemplo, se mide el par IgA kappa e IgA lambda para los frecuentes CM de tipo IgA en zona beta) y surge como una alternativa al dosaje de IgA total.
- Separación electroforética por EC, seguida de inmunosustracción (que identifica así proteínas que migran conjuntamente con el componente monoclonal).
- Cuantificación inmunoquímica de la inmunoglobulina comprometida, simultáneamente con densitometría de pico. Varios factores dificultan dar recomendaciones universales: ausencia de consenso en el ámbito internacional, diferente disponibilidad de técnicas analíticas (CE, HLC, inmunosustracción) y un formato establecido a lo largo del tiempo para comunicar resultados al médico hematólogo.

Sin embargo, la delimitación de pico junto con la determinación de la inmunoglobulina comprometida parecería la mejor opción para el monitoreo de pacientes con gammopatías monoclonales.

En el caso de que el laboratorio opte por cuantificar pico en zona no gamma, debe tener presente lo siguiente:

- Cuando la fracción no gamma que contiene al CM presenta un valor normal, no es posible su cuantificación y se debe recurrir al método inmunoquímico. A continuación, presentamos un ejemplo de cómo podría informarse adecuadamente: *Se observa banda homogénea en zona beta-2 no cuantificable por delimitación de pico.*
- Cuando la fracción no gamma que contiene al CM supera el valor de referencia, se recomienda informar como valor aproximado. Se recurre habitualmente a dos tipos de aproximaciones: restar al CM el valor promedio de la concentración de proteínas de la fracción donde se encuentra o informar concentración total de alfa/beta + CM, por ejemplo, de la siguiente manera: *Se observa banda homogénea en zona beta-2 con una concentración estimada de x g/dl [o g/L].*
- Cuando el CM se presenta entre dos fracciones proteicas, por ejemplo, entre alfa-1 y alfa-2, entre beta-1 y beta-2 o en beta-2-gamma, también se reporta su cuantificación como valor aproximado, por estar parcialmente solapado con una o más fracciones del perfil electroforético. La elección de un método u otro dependerá de cada laboratorio, pero es importante respetar el mismo criterio de cuantificación para un correcto seguimiento a lo largo del tiempo. Conocer las limitaciones de las técnicas utilizadas permite elegir la mejor estrategia de seguimiento.

5.2. Límite de cuantificación²³⁻²⁷

El límite de cuantificación del CM está en el orden de 1 g/L (0,1 g/dL). Dependerá de la zona de migración, del isotipo de inmunoglobulina, del fondo de inmunoglobulinas policlonales, del soporte e instrumento utilizado, del conocimiento de datos previos del paciente y de la experiencia del observador. Componentes que están por debajo de este valor no pueden ser cuantificados de forma confiable, especialmente si hay un fondo policlonal, y debería informarse cada uno como *menor que 1 g/L (0,1 g/dL)*.

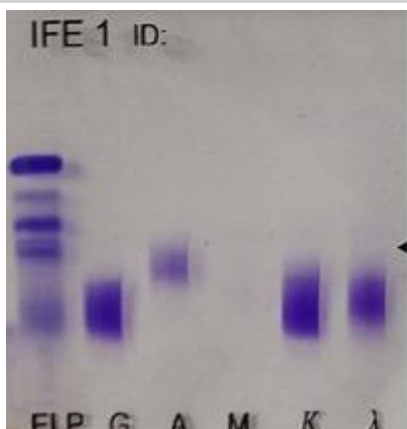
6. Aspectos sobre inmunofijación

6.1. Aspectos sobre inmunofijación sérica^{19,22,28-30}

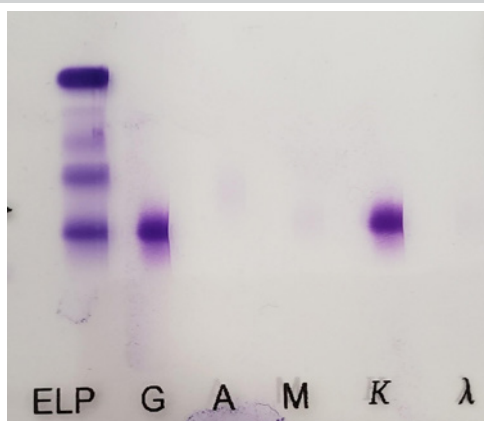
La observación de una banda homogénea (BH) en el proteinograma electroforético (PES) requiere ser verificada. Es por ello por lo que en estas recomendaciones se incluye una breve descripción de los dos métodos necesarios para confirmar su presencia.

Para la caracterización de la BH, contamos con dos técnicas: la inmunofijación sobre soporte sólido y la inmunosustracción o *immunotyping* en medio líquido.

- La inmunofijación (IF) es una electroforesis de zona seguida de una inmunoprecipitación con anticuerpos monoespecíficos para cadenas pesadas (G, A, M) y cadenas

Figura 8. Inmunofijación en suero.

► Se observa patrón policlonal.

Figura 9. Inmunofijación en suero.

► Se observa componente monoclonal correspondiente a IgG kappa.

livianas (κ y λ), con posterior coloración del complejo Ag-Ac precipitado con negro amido o violeta ácido (este último es más sensible). Las muestras se diluyen para enfrentarse con los antisueros según las indicaciones del fabricante de los reactivos utilizados. De ser posible, hay que realizar previamente el dosaje de las inmunoglobulinas por si fuera necesario hacer una mayor dilución en alguna de las calles.

La IF es la técnica más utilizada en la actualidad y la recomendada por el Grupo Internacional de Trabajo en Mieloma Múltiple (IMWG, por sus siglas en inglés) para la tipificación del componente monoclonal en el diagnóstico y seguimiento de las patologías linfoproliferativas.

La inmunosustracción consiste en la tipificación del componente monoclonal por electroforesis capilar (EC) utilizando anticuerpos mono-específicos. Se realiza el PES del paciente y se observa su perfil proteico. Seguidamente, se mezcla en un equipo automatizado la muestra con cada uno de los anticuerpos contra cadenas pesadas (G, A, M,) y cadenas livianas (κ y λ) y se procesa como 5 muestras independientes. Se superpone cada perfil de las 5 mezclas con los antisueros con la curva del PES tomada como patrón. Se observa la disminución o desaparición del pico monoclonal en el perfil de la mezcla con algún antisuero y así se tipifica el CM.

6.2. Límite de detección

El límite de detección en inmunofijación varía de 0,12 a 0,25 g/L y para inmunosustracción, es de 0,25 g/L. Para ambas técnicas, puede variar según la posición del pico y el fondo policlonal. Para la IF, también depende del colorante utilizado.

6.3. Utilidad de la inmunofijación

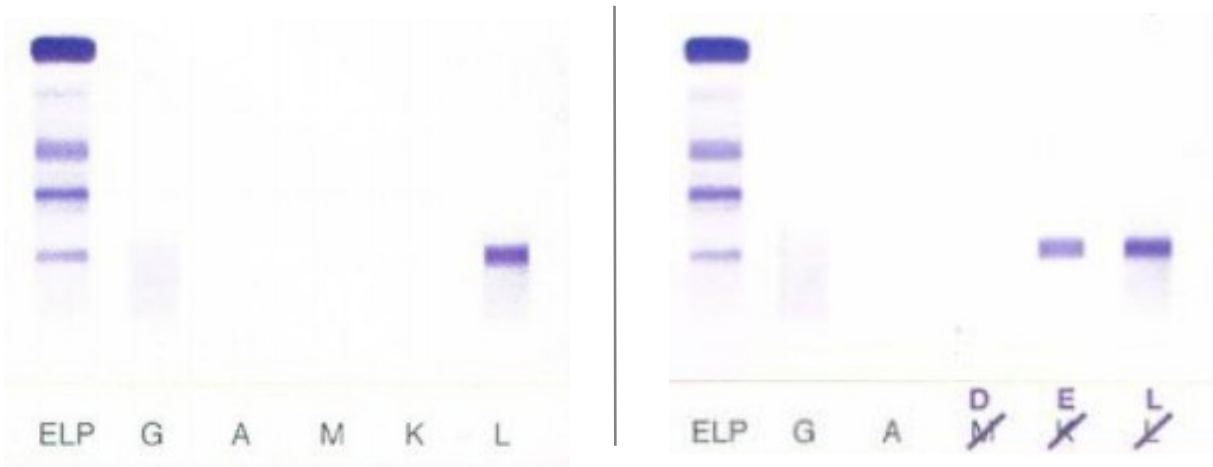
La inmunofijación es de utilidad ante:

- la presencia de una banda homogénea en el PES
- presencia de hipogammaglobulinemia sin causa que la justifique
- sospecha de CM en las fracciones alfa 2 y beta
- cambio de movilidad del CM en el PES
- desaparición del CM en el PES
- y como criterio para evaluar remisión completa.

6.4. Interpretación en informe

Se deben observar las seis calles de la IF: la primera representa el PES y las siguientes, el enfrentamiento con los distintos antisueros mono-específicos.

- La precipitación difusa y tenue en todas las calles indica una muestra normal. Se informa como *patrón compatible con perfil policlonal* (Figura 8).
- La presencia de precipitado en alguna de las calles, que involucra una cadena pesada (G; A; M), y un precipitado de la misma movilidad en alguna de las calles, que involucra las cadenas livianas (kappa o lambda), indican la presencia de una banda monoclonal. Es importante remarcar que los dos precipitados deben tener la misma movilidad que la BH observada en la primera calle. Se debe informar tanto la cadena pesada como liviana involucradas (Figura 9).
- La presencia de precipitado en alguna de las calles de cadenas livianas y no en cadenas pesadas puede deberse a una gammapatía IgD o IgE y se debe confirmar utilizando antisueros anti - D y E para descartar la presencia de estas cadenas pesadas; o puede deberse a la presencia de una cadena ligera libre, que se deberá confirmar con los antisueros específicos anticadenas ligeras libres kappa o lambda (Figura 10).
- Si se observan dos bandas en la zona correspondiente a las cadenas pesadas (iguales o diferentes) y dos bandas correspondientes a las cadenas livianas (iguales o diferentes), estamos en presencia de una biclonalidad, siempre dentro de un contexto clínico que lo confirme (Figura 11).
- Si se observan múltiples bandas en una o varias cadenas pesadas y en una o en las dos cadenas ligeras, se está en presencia de un patrón oligoclonal.
- La presencia de varias bandas en una misma cadena pesada y una misma cadena liviana podría deberse a inmunoglobulinas polimerizadas, las cuales deberían tratarse con β -mercaptoetanol (u otro agente despolimerizante) y volver a realizar la IF.

Figura 10. Inmunofijación correspondiente a un mieloma IgE lambda.

- Izquierda, primera inmunofijación: se observa banda monoclonal correspondiente a lambda, por lo tanto, se debe descartar una gammapatía monoclonal IgD o IgE y por ello se realiza una segunda inmunofijación probando los antisueros anti-D y anti-E.
Derecha, segunda inmunofijación: se observa banda monoclonal correspondiente a IgE lambda.

Resumen

En el informe debe constar:

- Presencia o ausencia de CM.
- Si hay CM, la cadena pesada y liviana involucrada por ejemplo.: IgGκ
- Si solo hay precipitado de cadena liviana, se debe aclarar si se enfrentó con antisueros para cadenas pesadas D y E.

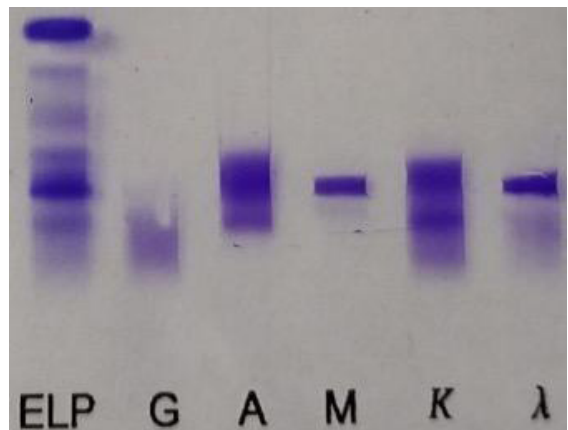
Además, se deberían incluir recomendaciones acerca de la necesidad de realizar estudios de mayor sensibilidad para la detección de cadenas livianas como la inmunofijación en orina o dosaje de cadenas livianas libres en suero en aquellos casos de componentes de muy baja concentración.

Interferencias y limitaciones

- Crioglobulinas: puede aparecer una banda en todas las calles en el punto de siembra.
- Fibrinógeno: aparece como una banda en la calle del PES que no correlaciona con ninguna banda en el resto de las calles (Figura 3).
- Con fondo policlonal marcado, se debe realizar una mayor dilución de la muestra.

Discusión

El PES es el punto de partida para el *screening* de numerosas patologías y juega un rol fundamental en el estudio de las gammapatías monoclonales. Permite diferenciar entre inmunoglobulinas monoclonales y policlonales y también, cuantificar por medida directa del perfil proteico el pico monoclonal (dato indispensable para el diagnóstico y seguimiento), pero presenta una sensibilidad limitada en la investigación de gammapatías oligosecretoras o de cadenas livianas libres monoclonales. Por ejemplo, el PES permite visualizar el CM en aproximadamente el 80 % de los casos de MM; un 10 % restante presentará hipogammaglobuline-

Figura 11. Patrón biclonal: IgM lambda - IgA kappa.

mia (por presencia de CLL en orina) y otro 10 % presentará un perfil normal o dudoso (patrón de migración ancho o aumento de zona beta-1, beta-2 o alfa-2). En todos los casos, se debe verificar la clonalidad a través de un método inmunoelectroforético.³¹

Luego, a través de la IF o inmunosustracción se establecen los isotipos de cadena pesada y/o ligera de inmunoglobulina. Debido a que estas técnicas inmunoelectroforéticas son aproximadamente diez veces más sensibles que el PES, es posible, en numerosas situaciones, no observar el CM por electroforesis, pero sí, por IF o inmunosustracción.

A su vez, las determinaciones cuantitativas de inmunoglobulinas pueden ayudar en la detección de proteínas monoclonales y complementar algunas de las debilidades de las técnicas electroforéticas (por ejemplo, la dificultad en la cuantificación del CM que migra en zona no gamma).

La determinación de CLL permite evaluar gammapatías

oligosecretoras o no secretoras y tiene también utilidad pronóstica en casos de CM mensurable. Este inmunoensayo automatizado para turbidimetría y nefelometría determina cadenas livianas kappa y lambda libres, no unidas a la cadena pesada. Cuantifica tanto las cadenas monoclonales como las policlonales, y la relación kappa/lambda fuera de su rango de referencia es un indicador de proliferación monoclonal.

Se ha demostrado que la prueba de CLL tiene importancia clínica para la detección, la estratificación del riesgo, el seguimiento y la evaluación de la respuesta. Las CLL son útiles para diagnóstico en *smoldering* mieloma múltiple (SMM) de alto riesgo, mieloma a cadena liviana, amiloidosis y mielomas no secretores. Presentan valor pronóstico en gammapatía monoclonal de significado incierto, SMM, MM y plasmocitoma. Se utilizan para monitoreo en mieloma a cadenas livianas, amiloidosis, mielomas no secretores, escape de CLL y para establecer respuesta completa estricta.

Para aumentar la sensibilidad diagnóstica en la búsqueda del CM, es necesaria la determinación simultánea o secuencial de diferentes técnicas, tales como PES, IF y CLL en suero y PE e IF en orina de 24 h. Debido a que ningún ensayo individual puede diagnosticar y monitorear de manera efectiva todas las enfermedades proliferativas de células plasmáticas, el laboratorio necesita definir estrategias que abarquen el espectro de presentaciones de la enfermedad. Por otra parte, se ha demostrado que diferentes enfoques de detección (paneles simplificados) pueden ser efectivos para diferentes trastornos de células plasmáticas.³²

El Grupo Internacional de Trabajo en Mieloma Múltiple ha definido paneles de *screening* para el estudio de GM que comprenden estudios en suero y en orina de 24 h. Recomiendan realizar proteinograma electroforético junto con inmunofijación sérica y CLL séricas, al momento del diagnóstico. En caso de sospecha de amiloidosis, sugieren incorporar también uroproteinograma e inmunofijación urinaria y, en el caso de confirmarse la presencia de GM, estudiar simultáneamente sangre y orina en los controles sucesivos.^{33,34}

Conclusión

El PES constituye una herramienta fundamental en el estudio de las disproteinemias. Para que el informe de resultados sea interpretativo y no meramente descriptivo, deben conocerse los diferentes perfiles proteicos y su implicancia clínica junto con las posibles interferencias que puedan presentarse y los estudios complementarios a sugerir.

Cuando se respeta una estrategia de trabajo adecuada y los resultados obtenidos son volcados a un informe de una manera consensuada o armónica, se evitan repeticiones innecesarias de estudios y/o demoras en el diagnóstico de la enfermedad. A su vez, el comentario en un resultado de laboratorio mejora considerablemente la interpretación del mismo, en numerosos casos; los resultados inesperados debido a una interferencia; los hallazgos particulares descubiertos por el laboratorio; etc.. Particularmente en las gammapatías monoclonales, la claridad

en la transmisión de resultados permite una ágil ampliación de la solicitud original al incluir pruebas más específicas.

Agradecimientos y dedicatoria especial

Agradecemos a las autoridades de la ABA por su apoyo incondicional para el desarrollo de las reuniones a lo largo de todos estos años, y hacemos una dedicatoria especial a la memoria de la Dra. Raquel Osatinsky, mujer extraordinaria, de un enorme compromiso con la profesión y la docencia, consultora y referente del Foro de Proteínas desde sus inicios y gran impulsora de nuevos proyectos, quien supo transmitirnos su pasión por el estudio de las proteínas. Sus enseñanzas perduran en todos aquellos que hemos tenido el placer de conocerla y su ejemplo de compromiso, generosidad y espíritu de grupo nos obliga a continuar la tarea emprendida.

Referencias bibliográficas

- Rajkumar S, Dimopoulos M, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos MV, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol*. 2014;15(12):538-4.
- Tate J, Caldwell G, Daly J, Gillis D, Jenkins M, Jovanovich S, et al. Working Party on Standardised Reporting of Protein Electrophoresis. Recommendations for standardized reporting of protein electrophoresis in Australia and New Zealand. *Ann Clin Biochem*. 2012;49(Pt 3):242-56
- Bootha R, McCudden C, Balionb C, Blasutigc I, Byouhtiauyd I, Rodriguez-Capotee K, et al. Candidate recommendations for protein electrophoresis reporting from the Canadian Society of Clinical Chemists Monoclonal Gammopathy Working Group. *Clin Biochem*. 2018;51:10-20.
- Acastello NE, Arco SE, Baquío MI, Bovone NS, Crispiani IA, De Marco B, et al. State of the art in the protein study field. Results of the survey carried out by the protein forum from October 2018 to March 2019 in Argentina. *ByPC; sep-dic 2021*; 85(3):26-31//ISSN-e 2684-0359
- Pérez Surribas D, Cárdenas Fernández MC, Zapico Muñoz E. Recomendaciones sobre la separación electroforética de las proteínas plasmáticas en el suero. *Documentos de la SEQC 2015*; 91-104.
- World Health Organization. Diagnostic Imaging and Laboratory Technology. [2002]. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/65957>
- Carballo L, Carballeira L, Calvo M, Rentería YM, García-Moll X, Martínez-Bru C. Interferencias por contrastes yodados en la electroforesis capilar. *Rev Lab Clin*. 2010;3:129-35.
- Aguzzi F, Allen W, Bienvenu J, Craig WY, Davis AE, Guder W. et al. *Serum Proteins in Clinical Medicine*. Volume I. Laboratory Section. 1.ª ed. Scarborough: Robert F. Ritchie, M.D.; 1996.
- Doménech MV, Hernández A, Ricós C, Minchinela J et al. Variación biológica en patologías: revisión de datos y consecuencias clínicas. *Rev Lab Clin* 2008;1:17-23.
- Gella FJ, Canalías F, Izquierdo S, Martínez V, Sánchez. M. Recomendaciones para la estimación de la incertidumbre de medida en el laboratorio clínico. *Documentos de la SEQC*. 2009;27-9.
- Luraschi P, Infusino I, Merlotti C, Franzini C. Analytical variation in the measurement of serum monoclonal component by capillary electrophoresis. *Clin Chim Acta*. 2004;349(1-2):151-6.
- Osatinsky R. *Las proteínas Séricas*. 1.ª ed. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Ed Emma Fiorentino Publicaciones Técnicas S.R.L.; 2012. 97 p.
- Osatinsky R, Desimone IV, Garnek L. Incidencia de patente oligoclonal en población adulta aparentemente sana. *Rev Mex Patol Clin Med Lab*. 2004;51(2):90-92.
- Osatinsky R, Desimone I, Garnek L. Importancia de la diferenciación de patentes poli, oligo y monoclonales: su valor diagnóstico. *Rev. Mexicana de Patología Clínica*. 2004;51:167-170.

CURSOS ABA

ASOCIACIÓN BIOQUÍMICA ARGENTINA

CICLO LECTIVO 2023

PROGRAMA DE EDUCACIÓN CONTINUA

Informes e inscripción

Secretaría de la Asociación Bioquímica Argentina

Venezuela 1823 Piso 3 (1096) – Buenos Aires -Argentina

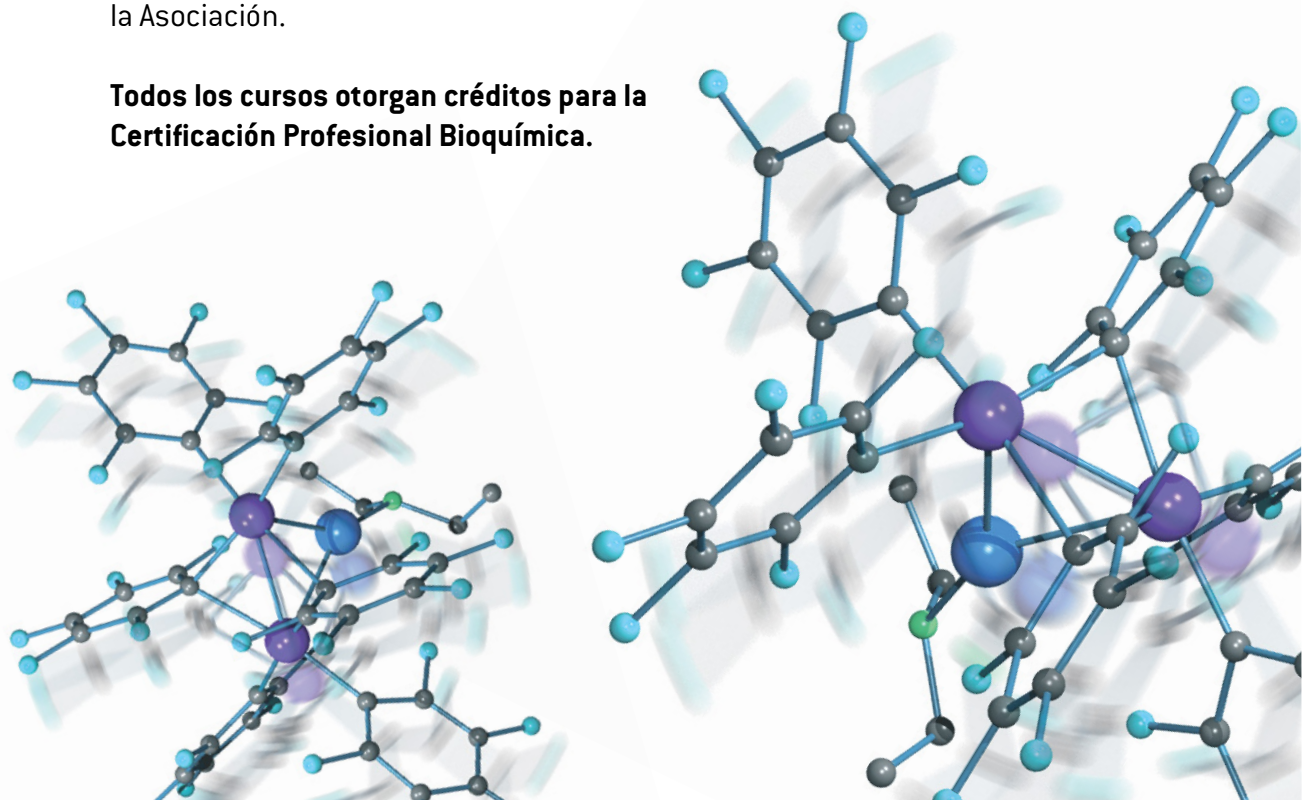
Tel: (011) 4381-2907 Telefax: (011) 4384-7415 - De 15 a 19 Hs.

Consultas administrativas: [cursos@aba-online.org.ar](mailto: cursos@aba-online.org.ar)

Programas completos disponibles en: <http://www.aba-online.org.ar/>

Nota para no socios: abonando la primera cuota social y adhiriendo al débito automático por tarjeta, podrá acceder a los cursos ABA como socio, recibiendo además todos los beneficios de la Asociación.

Todos los cursos otorgan créditos para la Certificación Profesional Bioquímica.



Anuncie en ByPC...

Bioquímica y Patología Clínica



Revista de la Asociación Bioquímica Argentina
Incorporada al Latindex y a la Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal (REDALYC)

Venezuela 1823 - Piso 3 - CP (1096)
Buenos Aires - Argentina
Tel/ fax: 4384-7415 - Tel: 4381-2907
e-mail: info@aba-online.org.ar
www.aba-online.org.ar

The collage features several covers of the journal 'Bioquímica y Patología Clínica'. The covers are arranged in a layered, overlapping fashion. The central cover is the most prominent, showing a portrait of Eugenia Sacerdote de Lustig. Other covers include a microscopic image of bone marrow, a portrait of a man in a suit, and a photograph of a couple dancing. The background of the collage is decorated with a molecular structure graphic and a grid of blue and white squares.

Cover 1 (Top Left): VOL 74 - Nº 1 - 2010. Ciudad de Bs. As. Argentina. ISSN 1515-6761. **Bioquímica y Patología Clínica**. Médula ósea de paciente de 4 meses de edad con Síndrome de Chediak Higashi.

Cover 2 (Top Middle): VOL 75 - Nº 2 - 2011. Ciudad de Bs. As. Argentina. ISSN 1515-6761. **Bioquímica y Patología Clínica**. Congreso Nacional Residentes Bioquímicos. Sociedad Argentina de Hematología y 26 de Agosto 2011.

Cover 3 (Top Right): VOL 75 - Nº 1 - 2011. Ciudad de Bs. As. Argentina. ISSN 1515-6761. **Bioquímica y Patología Clínica**. 69º Congreso Argentino de Bioquímica: Los Grandes Síndromes Clínicos: De la sospecha clínica al diagnóstico bioquímico molecular.

Cover 4 (Center): VOL 74 - Nº 2 - 2010. Ciudad de Bs. As. Argentina. ISSN 1515-6761. Ed. Impresa. ISSN 0250-9903 Ed. CD-ROM. **Bioquímica y Patología Clínica**. Personajes destacados: Eugenia Sacerdote de Lustig.

Cover 5 (Bottom Right): VOL 75 - Nº 1 - 2011. Ciudad de Bs. As. Argentina. ISSN 1515-6761. **Bioquímica y Patología Clínica**. Revista de la Asociación Bioquímica Argentina incorporada al Latindex y a la Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal (REDALYC).

PROGRAMA DE EVALUACIÓN CONTÍNUA ABA 2023

PRIMER CUATRIMESTRE

	NOMBRE DEL CURSO	INICIO 2023	DURACION	DIRECTOR/A
1	LA NEFROLOGIA DESDE EL LABORATORIO Y LA CLINICA I: Fisiopatología renal y bioquímica de los líquidos y electrolitos	13-Mar	CUATRIMESTRAL	Dr. Alberto Villagra
2	BIOLOGÍA MOLECULAR: APLICACIONES CLÍNICAS	13-Mar	ANUAL	Dr. Luis Bastos Dra. María de la Paz Domínguez
3	ESTADÍSTICA PRACTICA: "Herramientas básicas para la investigación clínica"	13-Mar	ANUAL	Prof. Dra. María de Luján Calcagno
4	CURSO ANUAL DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	20-Mar	ANUAL	Dra. María José Rial Dr. Jaime Kovensky
5	TÓPICOS DE ACTUALIZACION EN BIOQUÍMICA CLINICA EN LA PRACTICA DIARIA 2023	20-Mar	ANUAL	Dra. Silvia B. González Dra. Viviana Osta
6	CONTROL DE CALIDAD INTERNO. Fundamentos y estrategias para el laboratorio clínico	27-Mar	ANUAL	Dr. César Collino y otros
7	GASES EN SANGRE, OXIMETRIA, ELECTROLITOS Y METABOLITOS	27-Mar	SEMESTRAL	Dra. Silvia Gonzalez
8	HEMOSTASIA: PRINCIPIOS BASICOS TEORICOS Y PRACTICOS	3-Apr	CUATRIMESTRAL	Dr. Ricardo Forastiero Dra. Cristina Duboscq
9	DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO, DE LA CLÍNICA AL LABORATORIO	3-Apr	SEMESTRAL	Dra. María José Rial Dr. Jaime Kovensky
10	EVALUACIÓN DE LA PAREJA INFERTIL. "Rol e importancia del Laboratorio"	3-Apr	ANUAL c/15 días	Dr. Eduardo Mormandi Dra. Patricia Otero
11	DIAGNÓSTICO DE LAS HEMOGLOBINOPATÍAS Y TALASEMIAS: "A partir de casos clínicos"	10-Apr	CUATRIMESTRAL	Dra. Mónica Aixalá Dra. Silvia González
12	GENÓMICA Y BIOINFORMÁTICA APLICADAS A LA MEDICINA DE PRECISIÓN	10-Apr	CUATRIMESTRAL	Dr. Martín Abba Dr. Mariano Golubicki
13	LA BIOQUÍMICA EN EL BANCO DE SANGRE	10-Apr	SEMESTRAL	Dr. Jorge Rey
14	PATOLOGÍAS ENDOCRINOLÓGICAS: "El laboratorio clínico herramienta indispensable en el diagnóstico"	10-Apr	ANUAL	Dra. Patricia Otero
15	CALIDAD ANALITICA: Implementación de un Sistema de Gestión de Calidad: Herramientas prácticas para el Laboratorio Bioquímico	17-Apr	SEMESTRAL	Dr. César Collino Dr. César Yené Dr. Pablo Lujan Dr. Claudio Abiega
16	TOPICOS DE BIOQUÍMICA CLÍNICA Y PATOLOGÍA EN PEDIATRÍA 2023	17-Apr	ANUAL	Dra. Sandra Ayuso Dra. Viviana Osta
17	HERRAMIENTAS PARA EL RECONOCIMIENTO CITOMORFOLÓGICO DE LOS LINFOCITOS EN TRASTORNOS BENIGNOS Y MALIGNOS: linfocitos reactivos o sospecha de neoplasia?	24-Apr	TRIMESTRAL	Dra. Claudia Ayuso
18	TOXICOLOGIA LEGAL Y FORENSE	24-Apr	SEMESTRAL	Dra. Adriana Ridolfi Dra. Gloria Álvarez
19	ACTUALIZACION EN DIAGNÓSTICO VIRAL	27-Apr	CUATRIMESTRAL	Dra. María José Rial Dra. Alejandra Svartz
20	EL LABORATORIO FRENTE A LAS ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES: evaluación de factores de riesgo lipídico, no lipídico y de marcadores del evento agudo	27-Apr	CUATRIMESTRAL	Prof. Dr. Fernando Brites
21	BASES MOLECULARES Y CELULARES DEL FUNCIONAMIENTO DEL SISTEMA INMUNE	1-May	SEMESTRAL	Dr. Fernando Chirido
22	ENFOQUE MULTIDISCIPLINARIO EN EL DIAGNÓSTICO DE LA PATOLOGÍA ONCOLÓGICA	1-May	ANUAL	Dra. María Rugiero Dr. Eduardo Mormandi
23	CURSO INTEGRAL SOBRE LÍQUIDOS DE PUNCIÓN con Tópicos de Urgencia	8-May	CUATRIMESTRAL	Dr. Luis Palaoro

24	HALLAZGOS INUSUALES EN EL EXTENDIDO DE SANGRE PERIFÉRICA QUE ORIENTAN A LA SOSPECHA DE DIFERENTES ENFERMEADES	8-May	TRIMESTRAL	Dra. Claudia Ayuso
25	UTILIDAD DE LOS BIOMARCADORES EN SEPSIS	8-May	CUATRIMESTRAL	Dra. Silvia Gonzalez
26	ACTUALIZACIÓN EN EL ESTUDIO DE LAS DISPROTEINEMIAS	12-Jun	SEMESTRAL	Dra. Isabel Desimone Dra. Isabel Crispiani
27	CLAVES PARA LA INTERPRETACION Y VALIDACION DEL HEMOGRAMA AUTOMATIZADO. DETECCIÓN DE INTERFERENCIAS	12-Jun	TRIMESTRAL	Dra. Viviana Osta
28	ROL DE LA MORFOLOGÍA DE LAS CELULAS HEMATICAS EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS (NUEVO)	26-Jun	TRIMESTRAL	Dra. Viviana Osta
SEGUNDO SEMESTRE				
	NOMBRE DEL CURSO	INICIO 2023	DURACIÓN	DIRECTOR/A
29	APLICACIONES DE LA CITOMETRÍA DE FLUJO EN LA PRÁCTICA CLÍNICA. - CURSO POR CONVENIO: ABA- GRCF.	3-Jul	CUATRIMESTRAL	Dra. Viviana Novoa Dra. Emilse Bermejo
30	EVALUACIÓN DEL SEMEN HUMANO. TEÓRICO-PRÁCTICO	3-Jul	CUATRIMESTRAL	Dra. Julia Irene Ariagno
31	HEMOSTASIA EN PEDIATRIA	3-Jul	CUATRIMESTRAL	Dra. Inés Marcone Dra. Laura Colitto
32	EXÁMEN DE ORINA. ASPECTOS CITOLÓGICOS Y MICROBIOLÓGICOS	10-Jul	TRIMESTRAL	Dr. Luis Palaoro
33	CURSO DE NEUROINMUNOLOGIA	10-Jul	CUATRIMESTRAL	Dra. Silvia G. Ramos Dr. Andres Villa Dr. Gabriel Carballo
34	CURSO DE HISTOCOMPATIBILIDAD	17-Jul	CUATRIMESTRAL	Dr. Fernando Torletti
35	EL MICROSCOPIO COMO ALIADO EN EL DIAGNOSTICO (NUEVO)	17-Jul	SEMESTRAL	Dras. Viviana Osta María de la Paz Domínguez
36	CURSO DE AUTOINMUNIDAD – CLINICA Y LABORATORIO VER	24-Jul	CUATRIMESTRAL	Dr. Gabriel Carballo
37	INMUNOLOGIA CELULAR- EL LABORATORIO EN EL ESTUDIO DE LAS CÉLULAS DEL SISTEMA INMUNE Y SUS PATOLOGÍAS	31-Jul	TRIMESTRAL	Dra. Viviana Novoa
38	INHIBIDORES ADQUIRIDOS DE LA COAGULACION (NUEVO)	7-Aug	CUATRIMESTRAL	Dr. Ricardo Forastiero Dra. Cristina Duboscq
39	DILEMAS EN LA IDENTIFICACION MORFOLÓGICA DE LAS CÉLULAS DE LA SERIE MIELOIDE EN SANGRE PERIFERICA (NUEVO)	4-Sep	TRIMESTRAL	Dra. Claudia Ayuso
40	MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS Y BEBIDAS .CURSO TEÓRICO-PRÁCTICO	2do cuatrimestre	FALTA	Dras. Silvina Farrando María Laura Sánchez
41	HERRAMIENTAS BÁSICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	2do cuatrimestre	SEMESTRAL	Dr. Luis Bastos Dra. María de la Paz Domínguez
42	NEFROLOGÍA II . Rol del laboratorio en los criterios diagnósticos (NUEVO)	A confirmar	A CONFIRMAR	Dr. Alberto Villagra
43	NORMAS ISO (NUEVO)	A confirmar	A CONFIRMAR	Dr. César Collino
44	BIOQUIMICA EN EL DEPORTE (NUEVO)	A confirmar	A CONFIRMAR	Dr Christian Lassen y otros

SOLICITUD DE INSCRIPCION

ASOCIACION
BIOQUIMICA
ARGENTINA



ASOCIACION BIOQUIMICA ARGENTINA

Fundada el 3 de septiembre de 1934

Miembro Fundador:

Confederación Unificada Bioquímica de la Republica Argentina (CUBRA); Coordinadora de Colegios Bioquímicos de Ley de la República Argentina; Sociedad de Bioquímica y Patología Clínica del MERCOSUR.

Institución Invitada:

Ente Coordinador de Unidades Académicas de Facultades de Farmacia y Bioquímica (ECUAFyB)

Miembro Adherente:

Asociación Latinoamericana Patología Clínica.

Integrante:

Comisión Nacional de Certificación Bioquímica (COCERBIN); Comisión de Elaboración de Normas y Guías de Laboratorio del Ministerio de Salud y Acción Social; Consejo Asesor y del Comité de Auditoría Interna Programa de Acreditación de Laboratorios de la Fundación Bioquímica Argentina.

La ASOCIACION BIOQUIMICA ARGENTINA es la primera entidad Bioquímica de nuestro país, y la precursora de muchas otras en Latinoamérica.

Los objetivos que llevaron a su creación, siguen vigentes en la actualidad:

- 1 | Promover la educación continua de los bioquímicos.
- 2 | Editar la Revista Bioquímica y Patología Clínica, que es la revista científica de la Asociación, de distribución cuatrimestral.
- 3 | Desarrollar cursos de capacitación y actualización, en la Ciudad de Buenos Aires y el Interior del País.
- 4 | Cada 2 años, organiza en los años pares el Congreso Nacional Bioquímico y en los años impares, las Jornadas de Actualización ABA.
- 5 | En su sede tiene un aula docente de 30 asientos y un moderno laboratorio de trabajos prácticos.
- 6 | Asimismo, la Asociación ha implementado el Programa de Certificación Bioquímica, mediante el cual se puede acceder a los Certificados de Especialista, y de Actualización en una determinada especialidad o en Bioquímica Clínica.
- 7 | En la Asociación funcionan además, diferentes Comisiones Internas y las Divisiones / Secciones, encabezadas por prestigiosos profesionales, para asesorar a la Comisión Directiva y a sus socios.
- 8 | La ABA tiene convenios de cooperación institucional con universidades nacionales, privadas y fundaciones científicas de prestigio.

Los socios de la ABA gozan de aranceles preferenciales en cualquier actividad que desarrolla la Institución y reciben la Revista ByPC sin cargo adicional.

SOLICITUD DE INSCRIPCION

ASOCIACION
BIOQUIMICA
ARGENTINA



Para asociarse, debe hacernos llegar esta solicitud completa en letra clara de imprenta y sin omitir ningún dato. Adjuntar una foto carnet, una fotocopia del título (anverso y reverso, tamaño 10 x 15 cm) y -de elegir este sistema de pago- el formulario de ingreso al sistema de débito automático por tarjeta de crédito VISA o MASTERCARD (\$45/mes). En su defecto deberá abonar un año por adelantado (\$540/año)

En el caso que usted optara por el pago anual, puede hacerlo en efectivo en nuestra secretaría o mediante cheque y/o giro postal a la orden de "Asociación Bioquímica Argentina", completo, sin abreviaturas.

Apellido y Nombre

D.N.I. – L.C. – L.E. – C.I.

Fecha de Nacimiento

Domicilio

Localidad C.P.

Provincia País

Teléfono e-mail

Título profesional Otorgado por

Año Nro. Matrícula

Lugar de trabajo

Domicilio

Teléfono e-mail

INFORMES

Secretaría de la Asociación Bioquímica Argentina Venezuela 1823 Piso 3
1096 – Ciudad de Buenos Aires. e-mail: info@aba-online.org.ar.
TELEFAX (011)4384-7415 - TEL: (011) 4381-2907

Horario: Lunes a Viernes de 15:00 a 19:00 Hs.